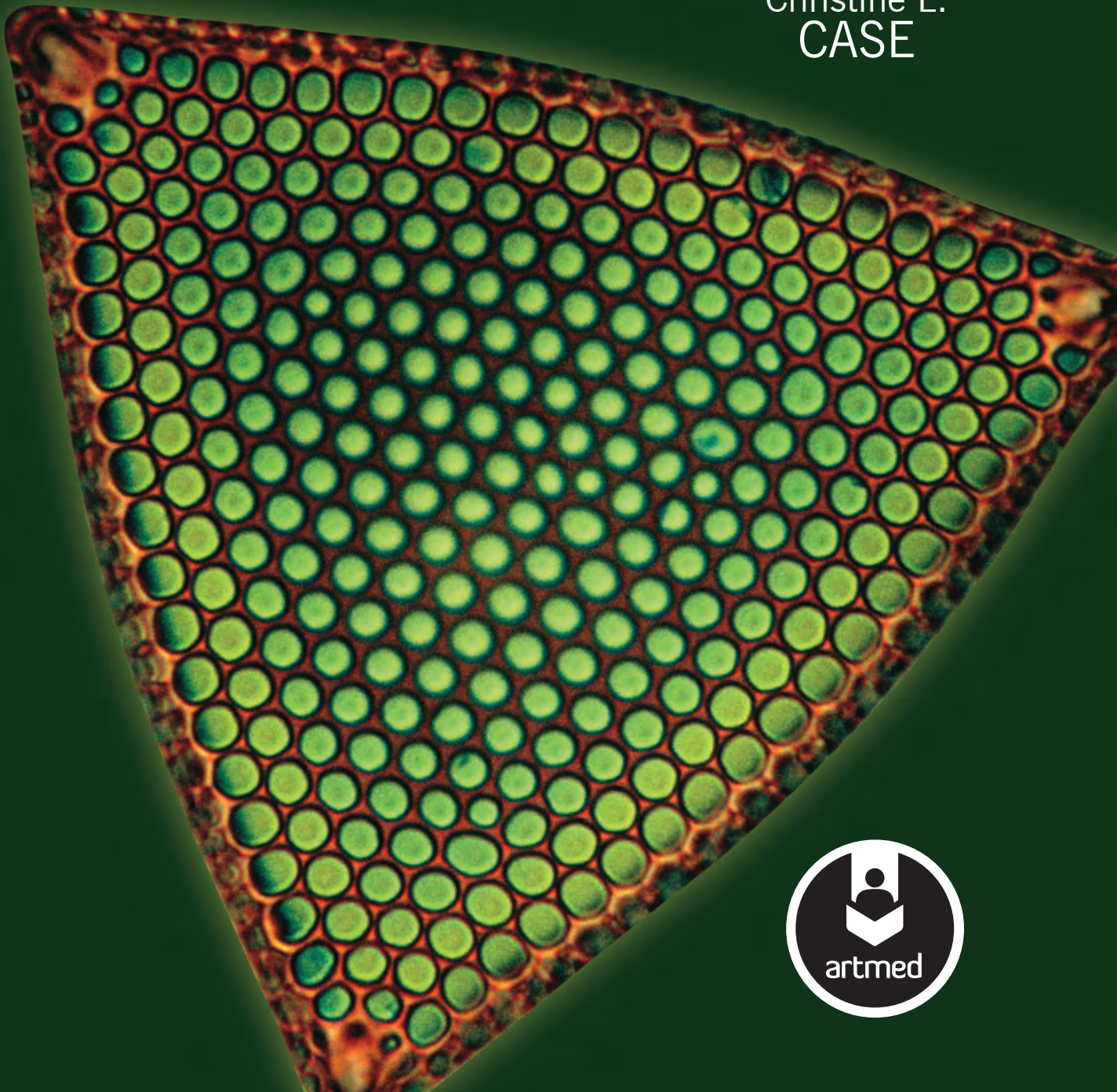
MICROBIOLOGIA

10ª Edição

Gerard J. TORTORA

Berdell R. FUNKE

Christine L. CASE

artmed

Tradução:

Aristóbolo Mendes da Silva
Professor Doutor, Departamento de Morfologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Bárbara Resende Quinan
Doutoranda, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Carlos Augusto Rosa
Professor Doutor, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Edel Figueiredo Barbosa Stancioli
Professora Doutora, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Fátima de Cássia Oliveira Gomes
Professora Doutora, Centro Federal de Educação Tecnológica
de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais

Flávio Guimarães da Fonseca
Professor Doutor, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Giliane de Souza Trindade
Professora Doutora, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Iara Apolinário Borges
Doutoranda, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Jacques Robert Nicoli
Professor Doutor, Departamento de Microbiologia,
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

T712m Tortora, Gerard J.
Microbiologia [recurso eletrônico] / Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case ; tradução: Aristóbolo Mendes da Silva ... [et al.] ; revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca. – 10. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2012.

Editado também como livro impresso em 2012.
ISBN 978-85-363-2698-6

1. Microbiologia. I. Funke, Berdell R. II. Case,Christine L. III. Título.

CDU 579

Catalogação na publicação: Ana Paula M. Magnus – CRB 10/2052

Gerard J. TORTORA
BERGEN COMMUNITY COLLEGE

Berdell R. FUNKE
NORTH DAKOTA STATE UNIVERSITY

Christine L. CASE
SKYLINE COLLEGE

MICROBIOLOGIA

10ª Edição

Consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição:
Flávio Guimarães da Fonseca
Professor Doutor, Departamento de Microbiologia, Instituto de
Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

Versão impressa
desta obra: 2012

2012

SOBRE OS AUTORES

Gerard J. Tortora – Jerry Tortora é professor de Biologia e ensina Microbiologia, Anatomia Humana e Fisiologia no Bergen Community College, em Paramus, New Jersey. Ele recebeu seu título de Mestre (M.A.) em Biologia do Montclair State College em 1965. Tortora pertence a diversas organizações de Biologia/Microbiologia, como a American Society of Microbiology (ASM), a Human Anatomy and Physiology Society (HAPS), a American Association for the Advancement of Science (AAAS), a National Education Association (NEA), a New Jersey Education Association (NJEA) e a Metropolitan Association of College and University Biologists (MACUB). Jerry é autor de diversos livros de Ciências Biológicas. Em 1995, foi selecionado como um dos melhores acadêmicos do Bergen Community College e foi nomeado Acadêmico de Distinção. Em 1996, recebeu um prêmio de Excelência do National Institute for Staff and Organizational Development (NISOD), pela Universidade do Texas, e foi selecionado para representar o Bergen Community College em uma campanha para a conscientização pública sobre a importância da contribuição das escolas da comunidade para uma melhor educação.

Berdell R. Funke – Bert Funke recebeu seus títulos de Doutor (Ph.D.), Mestre (M.S.) e Bacharel (B.S.) em Microbiologia na Kansas State University. Ele exerce sua carreira profissional como Professor de Microbiologia na North Dakota State University, onde leciona Microbiologia Introdutória, que inclui aulas laboratoriais, Microbiologia Geral, Microbiologia dos Alimentos, Microbiologia do Solo, Parasitologia Clínica e Microbiologia Patogênica. Como pesquisador e cientista na Experiment Station, em Dakota do Norte, publicou diversos artigos sobre Microbiologia do Solo e Microbiologia dos Alimentos.

Christine L. Case – Chris Case é Microbiologista e professora de Microbiologia no Skyline College, em San Bruno, Califórnia, onde tem trabalhado nos últimos 38 anos. Ela recebeu seu título de Doutora em Educação (Ed.D.) na Nova Southeastern University, e o título de Mestre (M.A.) em Microbiologia na San Francisco State University. Foi Diretora da Society for Industrial Microbiology (SIM) e é membro ativo da ASM e da SIM do norte da Califórnia. Ela recebeu os prêmios Hayward de Educador de Destaque da ASM e também da Califórnia. Em 2008, Chris recebeu o prêmio SACNAS de Mentor Distinto de Escolas Comunitárias/Tribais por sua dedicação aos estudantes, muitos dos quais se apresentaram em conferências para estudantes de graduação e também receberam prêmios. Além do ensino, Chris contribui regularmente para a literatura profissional, desenvolve metodologias inovadoras em educação e mantém uma dedicação pessoal e profissional voltada para a conservação e a importância da ciência para a sociedade. Também é uma fotógrafa ávida, e muitas de suas fotografias aparecem neste livro.

AGRADECIMENTOS

Ao preparar este livro, nos beneficiamos das orientações e sugestões de muitos professores de Microbiologia. Os revisores listados aqui fizeram críticas construtivas e sugestões valiosas em vários estágios do trabalho. Agradecemos e reconhecemos nossa dívida para com eles.

Revisores da décima edição

Cynthia Anderson
Mt. San Antonio College

Rod Anderson
Ohio Northern University

Terry Austin
Temple College

Joan Baird
Rose State College

Archna Bhasin
Valdosta State University

Victoria Bingham
Daytona Beach College

Phyllis Braun
Fairfield University

Donald P. Breakwell
Brigham Young University

Sandra Burnett
Brigham Young University

Susan Capasso
St. Vincent's College

Carol Castaneda
Indiana University Northwest

James K. Collins
University of Arizona

Lee Couch
University of New Mexico

Ellen C. Cover
Lamar University

Jean Cremins
Middlesex Community College

Melissa A. Deadmond
Truckee Meadows Community College

Janet M. Decker
University of Arizona

Vivian Elder
Ozarks Technical Community College

Christina Gan
Highline Community College

Pete Haddix
Auburn University Montgomery

Rachel Hirst
Massasoit Community College

Dawn Janich
Community College of Philadelphia

Judy Kaufman
Monroe Community College

Malda Kocache
George Mason University

John M. Lammert
Gustavus Adolphus College

Paul A. LeBlanc
University of Alabama

Michael W. Lema
Midlands Technical College

John Lennox
The Pennsylvania State University

Shawn Lester
Montgomery College

Leslie Lichtenstein
Massasoit Community College

Eric Lifson
Bucks County Community College

Suzanne Long
Monroe Community College

William C. Matthai
Tarrant County College Northeast

Philip Mixter
Washington State University

Rita B. Moyes
Texas A&M University

Ellyn R. Mulcahy
Johnson County Community College

Tim R. Mullican
Dakota Wesleyan University

Richard L. Myers
Missouri State University

Kabi Neupane
Leeward Community College

Lourdes P. Norman
Florida Community College, Jacksonville

Eric R. Paul
Southwestern Oklahoma State University

Judy L. Penn
Shoreline Community College

Jack Pennington
St. Louis Community College, Forest Park

Indiren Pillay
Culver-Stockton College

Ronny Priefer
Niagara University

Todd P. Primm
Sam Houston State University

Mary L. Puglia
Central Arizona College

Amy J. Reese
Cedar Crest College

Lois Sealy
Valencia Community College West

Heather Smith
Riverside City College

Kate Sutton
Clark College

Paul H. Tomasek
California State University, Northridge

David J. Wartell
Harrisburg Area Community College

M.J. Weintraub
Raymond Walters College

Ruth Wrightsman
Saddleback College

Anne Zayaitz
Kutztown University

Michele Zwolinski
Weber State University

Também agradecemos aos profissionais da Benjamin Cummings por sua dedicação e excelência. Leslie Berriman, nossa diretora executiva, nos manteve, com sucesso, focados na direção que queríamos dar a esta revisão. Robin Pille, editor de projeto, gerenciou primorosamente o desenvolvimento do livro, mantendo as linhas de comunicação abertas e garantindo o máximo de qualidade em cada etapa. A atenção cuidadosa de Sally Peyrefitte à continuidade e aos detalhes no processo de edição, tanto do texto como da arte, permitiu que os conceitos e as informações se mantivessem claros durante todo o processo.

Janet Vail e Wendy Earl guiaram o texto com excelência durante o processo de produção. Lisa Torri e os talentosos profissionais da Precision Graphics obtiveram sucesso na ambiciosa tarefa de preparar o novo e belíssimo programa de arte, a partir da renovação do complexo projeto gráfico das outras edições. Jean Lake coordenou os muitos e complexos estágios de desenvolvimento e execução da arte. A pesquisadora fotográfica, Maureen Spuhler, trabalhando em conjunto com o diretor sênior de fotografia e arte, Travis Amos, se esmerou para que tivéssemos imagens claras e fantásticas por todo o livro. Tani Hasegawa criou o elegante design interior do livro, e Yvo Riezebos obteve um resultado magnífico para a capa. A habilidosa equipe de profissionais da Progressive Information Technologies, liderada por Michelle Jones, realizou um trabalho fantástico ao conduzir este livro rapidamente pelo processo de editoração. Stacey Weinberger gerenciou o processo de produção.

Katie Heimsoth cuidou de maneira impecável dos materiais para professores e também foi a editora da nova edição do *Laboratory Experiments in Microbiology*, de Johnson e Case. Kelly Reed trouxe sua criatividade e experiência didática para cuidar do desenvolvimento dos materiais para os estudantes, inclusive o novo livro *Get Ready for Microbiology*. Lucinda Bingham gerenciou o programa de mídia, operando muitos milagres para produzir o impressionante arsenal de Recursos Didáticos. Leslie Austin e James Bruce gerenciaram a impressão e os suplementos de mídia durante os complexos estágios de produção.

Neena Bali, Diretora Sênior de Marketing, e toda a equipe de vendas da Pearson Science realizaram um trabalho sensacional ao apresentar este livro a professores e estudantes, garantindo sua permanente condição de ser o livro-texto mais vendido sobre microbiologia.

Todos gostaríamos de agradecer nossos cônjuges e familiares, que nos deram inestimável suporte durante o processo de escrita.

Finalmente, apresentamos nosso eterno apreço aos estudantes, cujos comentários e sugestões forneceram ideias e nos lembraram daquilo que precisavam. Este livro é para eles.

Gerard J. Tortora ***Berdell R. Funke*** ***Chistine L. Case***

PREFÁCIO

Desde a publicação de sua primeira edição, 30 anos atrás, mais de um milhão de estudantes já utilizaram *Microbiologia* em escolas e universidades em todo o mundo, fazendo deste o livro o mais usado nos cursos não especializados em microbiologia. A décima edição apresenta um texto de fácil compreensão, assumindo que não houve estudo anterior de química ou biologia. O texto é apropriado para estudantes de diversos cursos, incluindo aqueles dedicados às ciências da saúde, ciências biológicas, ciências ambientais, ciências animais, engenharias florestais, agricultura, economia doméstica e artes.

Marcos de *Microbiologia*

Mantivemos, nesta nova edição, as características que tornaram as edições anteriores tão populares.

- **Um equilíbrio entre os fundamentos da microbiologia e suas aplicações, e entre aplicações médicas e em outras áreas da ciência microbiológica**. Como nas edições anteriores, os princípios básicos da microbiologia recebem maior ênfase que as aplicações, e as aplicações relacionadas à saúde são enfatizadas.
- **Apresentação direta de tópicos complexos.** Cada seção do livro foi escrita pensando no estudante. Nosso livro é conhecido por suas explicações claras e sua didática consistente.
- **Fotografias e ilustrações claras, acuradas e pedagogicamente efetivas.** Diagramas passo a passo, diretamente ligados às descrições, auxiliam o estudante a compreender os conceitos abordados. Apresentações claras e acuradas de processos e estruturas fazem com que o estudante direcione sua atenção ao que deve ser aprendido. A quantidade e a qualidade das micrografias eletrônicas e ópticas apresentadas não têm paralelo no mercado.
- **Organização flexível.** O livro foi organizado de uma forma que acreditamos ser adequada, porém reconhecemos que o material poderia ser apresentado efetivamente de diversas outras formas. Assim, para satisfazer aqueles professores que preferem usar uma ordem diferente, preparamos cada capítulo para ser o mais independente possível dos demais, incluindo muitas referências cruzadas. O Guia do Instrutor (em inglês), escrito por Christine Case, fornece instruções detalhadas para organizar o material de diversas outras formas.*

O que há de novo na décima edição

Veja as páginas xv a xii para uma introdução visual à décima edição.

As mudanças nesta edição são direcionadas para os maiores desafios de um professor em uma disciplina introdutória de microbiologia: as grandes diferenças nos níveis de desenvolvimento dos estudantes, incluindo aqueles pouco preparados. A décima edição vai ao encontro de todos os estudantes e seus respectivos níveis de habilidade e compreensão.

Os destaques dessa edição podem ser vistos nas novas Figuras Fundamentais, que auxiliam os estudantes a avaliar sua compreensão à medida que progridem em cada capítulo. Destacam-se, ainda, os novos quadros, que preparam os estudantes para começar a pensar como clínicos. Os conteúdos também foram substancialmente atualizados.

Figuras fundamentais

Com o objetivo de ajudar os estudantes a compreender os conceitos centrais da microbiologia, os autores realizaram a integração de texto e material visual em 20 Figuras Fundamentais especialmente preparadas. Estas Figuras Fundamentais incluem Conceitos-chave que garantem que os estudantes entendam o conceito central da figura e também explicações sobre como cada figura é essencial para a continuidade do aprendizado. Além disso, ao longo de todo o livro, as ilustrações foram revisadas e atualizadas com novo estilo artístico e um palheta de cores mais vibrantes, mais contrastes e mais dimensionalidade.

Características que auxiliam os estudantes a testar seu conhecimento

Novas questões do tipo Teste seu Conhecimento fazem com que os estudantes interajam com o material e avaliem sua compreensão dos Objetivos do Aprendizado à medida que progridem em cada capítulo. Questões inovadoras do tipo Desenhe estão incluídas ao final de cada capítulo, em Questões para Estudo, sugerindo aos estudantes que esbocem diagramas ou preencham uma figura ou um gráfico. As populares questões de Legenda das Figuras foram mantidas e aprimoradas.

Auxílio aos estudantes para que comecem a pensar como clínicos

Quadros revistos e redesenhados sobre Aplicações da Microbiologia descrevem os usos correntes e práticos da microbiologia. Novos quadros atualizados sobre Foco Clínico contêm dados obtidos do *Morbidity and Mortality Weekly Report*, que foram transformados em problemas de resolução clínica, os quais auxiliam os estudantes a desenvolver o pensamento crítico, dando a eles um papel ativo enquanto leem. Os quadros de Doenças em Foco substituem as tabelas comparativas sobre doenças, organizando informações sobre doenças semelhantes em um formato orientado para a descoberta e visualmente interessante, sendo um instrumento útil para o estudo.

---

* Disponível na Área do Professor, acessível no *link* do livro no *site* www.grupoa.com.br.

Atualizações de conteúdo e temporalidade

A resistência antimicrobiana, os biofilmes, o bioterrorismo e a evolução recebem atenção e ênfase especiais. Nos capítulos sobre imunidade – Capítulos 16 e 17 –, foram implementados atualizações cuidadosas e significativas para manter as informações temporalmente corretas, claras e acuradas, porém com o mesmo nível de detalhamento. A taxonomia, a nomenclatura e os dados sobre a incidência de doenças são correntes até agosto de 2008.

Revisão dos capítulos

Cada capítulo desta edição foi atentamente revisado, e os dados no texto, nas tabelas e nas figuras foram atualizados. As principais mudanças em cada capítulo são resumidas a seguir.

Parte um
Fundamentos de Microbiologia

Capítulo 1: O Mundo Microbiano e Você

- A tabela "Familiarizando-se com os nomes científicos" foi deslocada do Capítulo 10 para este capítulo.
- Os biofilmes foram introduzidos.
- A discussão sobre doenças infecciosas emergentes foi atualizada, incluindo uma seção sobre a resistência bacteriana aos antibióticos.

Capítulo 2: Princípios Químicos

- Definições foram expandidas, incluindo as definições de *ácidos graxos cis* e *trans*.
- A Figura 2.16 agora é uma Figura Fundamental.

Capítulo 3: Observando Micro-organismos Através do Microscópio

- A microscopia de dois fótons foi incluída.
- Diversas novas ilustrações e imagens foram incluídas.
- A Figura 3.2 agora é uma Figura Fundamental.

Capítulo 4: Anatomia Funcional de Células Procarióticas e Eucarióticas

- A Figura 4.6 agora é uma Figura Fundamental.
- A discussão sobre flagelos, fímbrias e pili foi revisada, assim como a discussão sobre os lipopolissacarídeos.
- A discussão sobre difusão facilitada foi revisada, e uma nova figura compara os tipos de difusão através de membranas, inclusive as aquaporinas.

Capítulo 5: Metabolismo Microbiano

- A seção sobre testes bioquímicos foi expandida.
- As novas ilustrações de enzimas são mais realistas.
- A Figura 5.11 agora é uma Figura Fundamental.
- Um novo quadro "Foco Clínico" ilustra o uso de testes bioquímicos para a identificação de micobactérias de crescimento lento.

Capítulo 6: Crescimento Microbiano

- A discussão sobre biofilmes que previamente aparecia no Capítulo 27 foi transferida para este capítulo, tendo sido significativamente atualizada e expandida.
- A discussão sobre meios e métodos para o crescimento anaeróbico foi atualizada.
- Uma discussão sobre os níveis de biossegurança foi adicionada, incluindo uma figura que ilustra o nível de biossegurança 4.
- Uma nova figura mostrando o meio diferencial foi adicionada.
- A Figura 6.15 agora é uma Figura Fundamental.
- Um novo quadro "Foco Clínico" ilustra o papel dos biofilmes na ocorrência de doenças nosocomiais.

Capítulo 7: Controle do Crescimento Microbiano

- A definição de *esterilização* foi atualizada e qualificada em consideração à existência dos prions.
- A Figura 7.1 agora é uma Figura Fundamental.
- A discussão sobre temperatura ultra-alta (UHT) foi melhorada.
- Novos produtos e usos recentemente aprovados foram incluídos.
- Um novo quadro "Foco Clínico" ilustra a relação entre desinfecção inapropriada e doenças nosocomiais.

Capítulo 8: Genética Microbiana

- A Figura 8.2 agora é uma Figura Fundamental.
- A discussão sobre recombinação genética por *crossing-over* foi melhorada.
- Os snRNPs foram definidos.
- Operons indutíveis e repressíveis são explicados e comparados em figuras separadas.

Capítulo 9: Biotecnologia e DNA Recombinante

- A Figura 9.1 agora é uma Figura Fundamental.
- O silenciamento gênico, a genética reversa e a PCR em tempo real são discutidos.
- Um novo quadro "Foco Clínico" descreve o uso de RT-PCR para o estudo de um surto por norovírus.

Parte dois
Visão Geral do Mundo Microbiano

Capítulo 10: Classificação dos Micro-organismos

- A Figura 10.1 agora é uma Figura Fundamental.
- Fotos de estromatólitos vivos e fósseis foram incluídas.
- O uso de meios de transporte é explicado.

Capítulo 11: Procariotos: Domínios *Bacteria* e *Archaea*

- Diversos novos grupos bacterianos são discutidos: *Pelagibacter, Acinetobacter baumanii*, Planctomicetos, *Gemmata obscuriglobus*.
- A discussão sobre o tamanho mínimo teórico de uma bactéria e seus requerimentos genéticos foi revisada.

Capítulo 12: Eucariotos: Fungos, Algas, Protozoários e Helmintos

- Exemplos de novas utilizações de fungos como pesticidas são listados.
- A discussão sobre os oomicetos foi expandida para incluir a introdução do *Phytophthora* nos Estados Unidos. O ciclo de vida dos oomicetos é ilustrado em uma nova figura.
- O verme do coração foi incluído.
- Um novo quadro "Foco Clínico" salienta a diarreia criptosporidiana, o patógeno mais comum associado à natação.

Capítulo 13: Vírus, Viroides e Prions

- O capítulo começa com o uso de retrovírus para modificar geneticamente uma célula.
- A Figura 13.15 agora é uma Figura Fundamental.
- O colapso da colônia de abelhas é mencionado.
- O quadro "Foco Clínico" sobre a evolução e a ocorrência da gripe aviária foi atualizado.

Parte três
Interação entre Micróbio e Hospedeiro

Capítulo 14: Princípios de Doença e Epidemiologia

- A Figura 14.3 agora é uma Figura Fundamental.
- As estatísticas sobre doenças infecciosas notificáveis foram atualizadas.
- Um novo quadro "Foco Clínico" ilustra o surgimento de MRSA adquirido em hospitais e em comunidades.

Capítulo 15: Mecanismos Microbianos de Patogenicidade

- A discussão sobre toxinas A-B foi expandida e melhorada.
- A Figura 15.5, ação de uma exotoxina, foi revisada e expandida.
- As Figuras 15.4 e 15.9 agora são Figuras Fundamentais.
- Um novo quadro "Foco Clínico" ilustra o papel dos biofilmes e das endotoxinas nas infecções pós-operatórias.

Capítulo 16: Imunidade Inata: Defesas Inespecíficas do Hospedeiro

- O tratamento de diversos tópicos foi expandido e/ou reorganizado e melhorado: fatores físicos e químicos na primeira linha de defesa; elementos formados no sangue; sistema linfático (incluindo ilustrações adicionais); aderência, proteínas de fase aguda, complemento, proteínas de ligação ao ferro e peptídeos antimicrobianos.
- O papel dos biofilmes na evasão da fagocitose foi incluído.
- As Figuras 16.7 e 16.9 agora são Figuras Fundamentais.
- O quadro "Aplicações da Microbiologia" sobre coleções de soro foi revisado para incluir testes de complemento no monitoramento de doenças causadas por imunocomplexos.

Capítulo 17: Imunidade Adaptativa: Defesas Específicas do Hospedeiro

- Uma nova foto ilustra a morfologia real de um anticorpo, mostrada por microscopia de força atômica.
- Diversas figuras importantes foram extensivamente revistas e melhoradas em sua precisão e clareza.
  - Figura 17.5. Seleção clonal e diferenciação de células B.
  - Figura 17.10. Ativação de células T auxiliares $CD4^+$.
  - Figura 17.11. Morte por um linfócito T citotóxico de uma célula-alvo intoxicada por vírus.
  - Figura 17.19. A natureza dupla do sistema imune adaptativo (agora uma Figura Fundamental).
- Uma nova foto e ilustração (Figura 17.9) mostra células M encontradas dentro da placa de Peyer.
- A discussão sobre o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) foi revisada e melhorada.
- As convenções de nomenclatura foram atualizadas para as células T (p. ex., células T auxiliares, células T $CD4^+$).
- As discussões sobre células T, células dendríticas e citocinas foram completamente revisadas.
- Um novo quadro "Aplicações da Microbiologia" descreve o possível uso de IL-12 para o tratamento da psoríase.

Capítulo 18: Aplicações Práticas da Imunologia

- A Figura 18.2 agora é uma Figura Fundamental.
- As discussões sobre vacinas de DNA e adjuvantes foram revisadas e atualizadas.
- As tabelas de cronogramas de vacinação foram atualizadas.
- Um novo quadro "Foco Clínico" ilustra o sucesso da vacinação na eliminação do sarampo nos Estados Unidos e salienta a importância do sarampo como causa de mortes nos países em desenvolvimento.

Capítulo 19: Distúrbios Associados ao Sistema Imune

- A análise dos grupos sanguíneos inclui uma discussão sobre a relação entre determinados grupos e sua resistência ou suscetibilidade relativa em relação a certas doenças.
- Uma discussão sobre a psoríase, doença autoimune, e as artrites associadas a ela foi introduzida, juntamente com os tratamentos correntes utilizando anticorpos monoclonais.
- A discussão sobre células-tronco foi atualizada, e uma nova figura (Figura 19.10) ilustra a derivação de células-tronco e linhagens relacionadas.
- A discussão sobre HIV e Aids foi revisada e atualizada. Especialmente importante é a revisão completa da Figura 19.13, que mostra a sequência de adsorção, fusão e entrada do vírus nas células-alvo T $CD4^+$.
- A Figura 19.16 agora é uma Figura Fundamental.

Capítulo 20: Drogas Antimicrobianas

- A Figura 20.2 agora é uma Figura Fundamental.
- A descoberta histórica das drogas Sulfa recebe maior destaque.
- Os métodos correntes usados para o descobrimento de novas drogas são discutidos, inclusive métodos de alta eficiência.
- A discussão sobre os antibióticos foi atualizada para incluir novos antibióticos. A discussão sobre o tratamento antiviral de HIV/Aids foi especialmente atualizada e revisada para incluir os últimos desenvolvimentos nesta área de constantes mudanças.
- A discussão sobre resistência aos antibióticos foi completamente revisada e expandida, e uma nova Figura Fundamental (Figura 20.20) ilustra os alvos mais importantes para a resistência.
- A discussão sobre o futuro do desenvolvimento de antibióticos e a perspectiva de antibióticos não convencionais foi totalmente revisada e atualizada.

Parte quatro
Micro-organismos e Doenças Humanas

Capítulo 21: Doenças Microbianas da Pele e dos Olhos

- A discussão sobre o *Staphylococcus aureus* foi completamente re-escrita com ênfase na importância dos MRSAS.
- A discussão sobre impetigo e síndrome da pele escaldada foi revisada, e uma discussão sobre uma nova doença, a úlcera de Buruli, foi adicionada.
- Alguns dos novos tratamentos de acne agora têm uma discussão expandida.

Capítulo 22: Doenças Microbianas do Sistema Nervoso

- Uma nova figura (Figura 22.4) ilustra a medula espinal.
- A discussão sobre criptococose foi revisada para incluir um novo patógeno.
- Uma breve descrição dos prions foi incluída para suplementar as informações fornecidas no Capítulo 13.
- A discussão sobre síndrome de doença crônica foi completamente revisada e agora inclui as definições diagnósticas do CDC e o nome alternativo de encefalomielite miálgica.

Capítulo 23: Doenças Microbianas dos Sistemas Cardiovascular e Linfático

- As definições dos nomes similares *septicemia* e *sepse* foram revisadas.
- As discussões sobre brucelose e febre da mordida do rato foram completamente re-escritas.
- A discussão sobre erliquiose foi revisada para incluir a nova terminologia da anaplasmose.
- Uma discussão sobre a febre chikungunya foi adicionada por sua disseminação atual para regiões de climas temperados.
- A discussão sobre malária foi completamente revisada para uma melhor diferenciação entre profilaxia e terapia.

Capítulo 24: Doenças Microbianas do Sistema Respiratório

- A discussão sobre coqueluche foi revisada para melhor descrever alguns dos últimos desenvolvimentos, especialmente o aumento recente do número de casos.
- A discussão sobre tuberculose foi atualizada e revisada para incluir mais dados sobre cepas do patógeno extremamente resistentes e alguns dos métodos diagnósticos mais recentes.
- A discussão sobre a gripe foi totalmente revisada e atualizada, especialmente a parte referente às formas de surgimento de mutantes e à infectividade do vírus da gripe aviária.

Capítulo 25: Doenças Microbianas do Sistema Digestório

- A discussão sobre a diarreia do viajante foi re-escrita para incluir a *E. coli* enteroagregativa, um importante patógeno.
- Drogas terapêuticas recentes para o tratamento de HBV foram incluídas.
- A discussão sobre os norovírus foi atualizada, com especial atenção dada aos métodos de descontaminação disponíveis para lidar com os surtos.

Capítulo 26: Doenças Microbianas dos Sistemas Urinário e Reprodutivo

- A discussão sobre a microbiota vaginal foi extensamente revisada.
- A discussão introdutória sobre a sífilis, especialmente em relação à análise genética recente e sua provável origem no Novo Mundo, foi revisada.
- A discussão sobre testes para sífilis foi revisada.
- O painel de testes TORCH foi incluído.

Parte cinco
Microbiologia Ambiental e Aplicada

Capítulo 27: Microbiologia Ambiental

- A figura do ciclo do enxofre (Figura 27.7) foi completamente redesenhada.
- A discussão sobre plásticos biodegradáveis foi revisada e atualizada.

Capítulo 28: Microbiologia Industrial e Aplicada

- A discussão sobre biocombustíveis foi expandida.

Uma abordagem visual para ensinar...

Novas Figuras Fundamentais enfatizam os conceitos centrais da microbiologia e fornecem aos estudantes as bases que eles precisam.

Em sua décima edição, este livro, um dos mais vendidos do mundo, destaca o principal desafio das disciplinas de Microbiologia: as diferenças nos níveis de desenvolvimento dos estudantes, incluindo aqueles pouco preparados. **Figuras Fundamentais**, novas e extremamente visuais, conectam os estudantes com a essência dos conteúdos de microbiologia.

O texto introdutório explica por que a figura é fundamental para a compreensão de outros conceitos que os estudantes aprenderão a seguir.

Figura 4.6

FIGURA FUNDAMENTAL A estrutura de uma célula procariótica

Esta célula procariótica mostra estruturas típicas que podem ser encontradas em bactérias. Cada uma das estruturas marcadas será discutida individualmente neste capítulo. Como você viu nos capítulos anteriores, algumas das estruturas contribuem para a virulência bacteriana, possuem um papel na sua identificação e são alvo de agentes antimicrobianos.

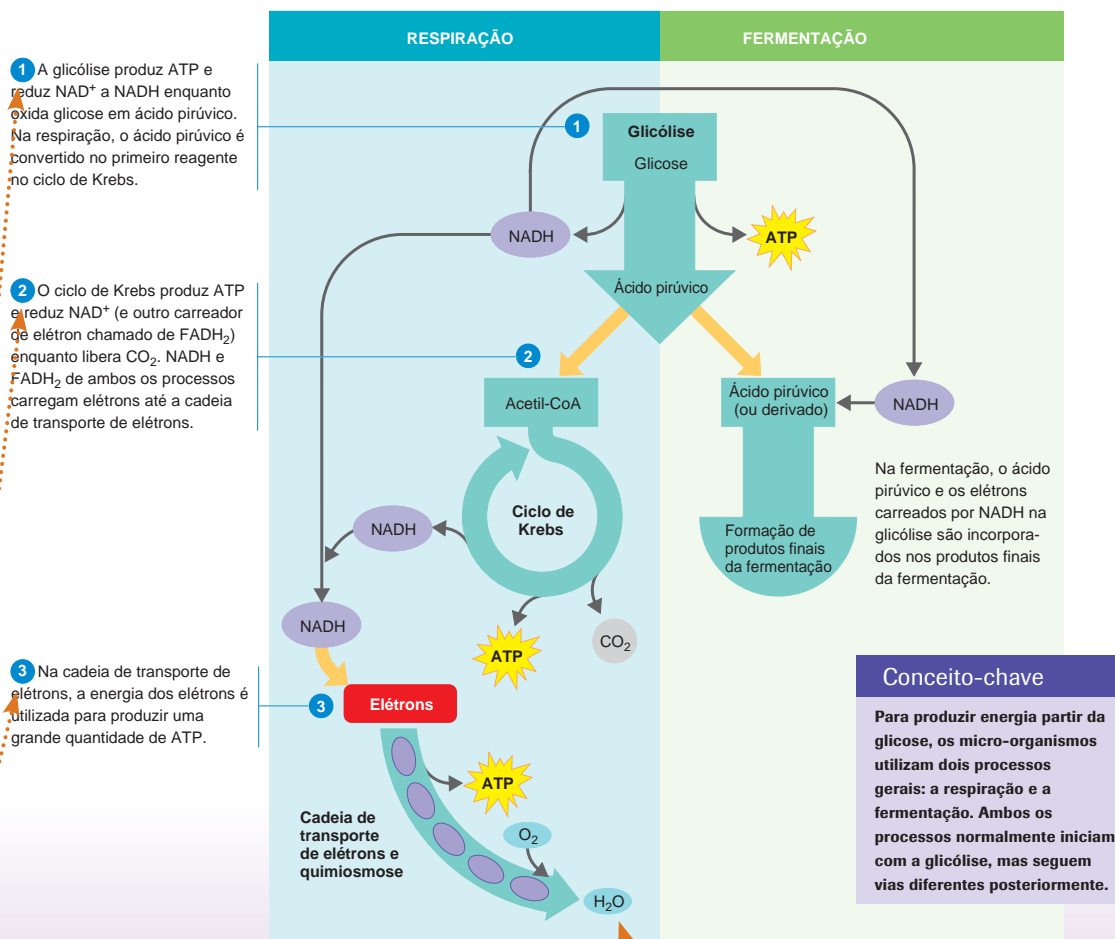
Observe que nem todas as bactérias possuem todas as estruturas mostradas. As estruturas marcadas em **vermelho** são encontradas em todas as bactérias. O desenho e a micrografia mostram a bactéria seccionada transversalmente para revelar a composição interna.

Conceito-chave

As células procarióticas não possuem organelas envolvidas por membrana. Todas as bactérias possuem citoplasmas, ribossomos, uma membrana plasmática e um nucleoide. A maioria das bactérias possui paredes celulares.

O quadro Conceito-chave apresenta uma visão geral, enfatizando o conceito central apresentado na figura.

Ícones MET/MEV/MO, claros e consistentes, aparecem em todas as microfotografias, apresentando rapidamente o tipo de microscópio usado.

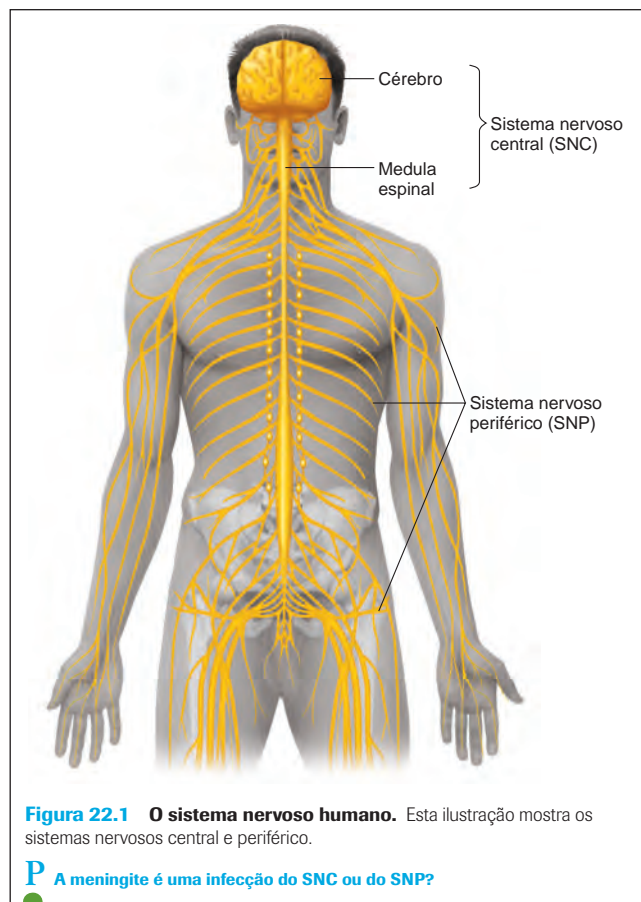
... os fundamentos da microbiologia

Numerações em azul, fáceis de localizar, guiam as etapas de processos complexos, fragmentando-os em partes claras e tornando os conceitos mais fáceis de ensinar a aprender**.**

O uso consistente de símbolos e cores permite aos estudantes progredir com confiança de partes familiares de processos ilustrados para aquelas ainda desconhecidas. Moléculas como o ATP apresentam sempre a mesma forma e cor ao longo de todo o livro.

Para uma lista completa das Figuras Fundamentais, veja a página xxix.

Oportunidades frequentes para os estudantes testarem sua compreensão...

Figura 22.1 **O sistema nervoso humano.** Esta ilustração mostra os sistemas nervosos central e periférico.

P **A meningite é uma infecção do SNC ou do SNP?**

Questões de Legenda das Figuras exigem dos estudantes a aplicação dos conceitos apresentados no texto.

Novas questões Desenhe dão aos estudantes a oportunidade de interagir com as figuras e desenvolver uma melhor compreensão do conteúdo. Respostas sugeridas para essas questões estão disponíveis na seção Respostas, na parte final do livro, e mostram como seria o trabalho real de um estudante.

3. **DESENHE** Identifique as partes de um microscópio óptico composto na figura abaixo e então desenhe a trajetória percorrida pela luz a partir do iluminador até o seu olho.

Novas questões Teste seu Conhecimento aparecem ao final de cada seção importante, fazendo com que os estudantes interajam com o texto e avaliem sua compreensão da seção.

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

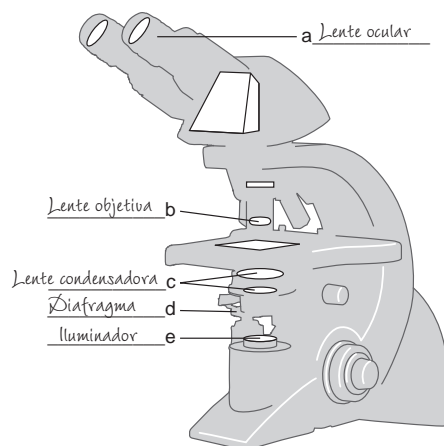
6-8 Diferenciar os meios quimicamente definido e complexo.

6-9 Justificar a utilização dos seguintes itens: técnicas anaeróbicas, células hospedeiras vivas, jarras com velas, meios seletivos e diferenciais e meio de enriquecimento.

6-10 Diferenciar os níveis de biossegurança 1, 2, 3 e 4.

é semeada em um meio sólido com a mesma composição, as colônias do organismo capaz de utilizar o fenol poderã[...] Um aspecto admirável dessa técnica é que o fenol normalmente é letal para a maioria das bactérias.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Os seres humanos poderiam se desenvolver em um meio quimicamente definido, pelo menos em condições de laboratório? **6-8**
- ✓ Louis Pasteur, nos anos de 1800, poderia ter crescido o vírus da raiva em cultura de células em vez de animais vivos? **6-9**
- ✓ Que nível de BSL o seu laboratório tem? **6-10**

Os números coincidentes em Objetivos do Aprendizado e nas questões Teste seu Conhecimento auxiliam os estudantes a determinar que objetivos eles foram capazes de atingir e aqueles que ainda requerem mais estudo.

... e pensarem como clínicos

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Infecção sanguínea após cateterização

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os agentes de controle de infecção se perguntam quando tentam descobrir a fonte de uma infecção. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. No início de março, uma solução intravenosa de heparina foi recolhida após pacientes de quatro estados ter desenvolvido infecções sanguíneas por *Pseudomonas fluorescens*.
   Após examinar a Figura A, você considera que o recolhimento foi eficiente?
2. Três meses após o recolhimento, pacientes em dois estados diferentes desenvolveram infecções sanguíneas.
   O que é preciso saber?
3. A última exposição à heparina contaminada foi de 84 a 421 dias antes do começo das infecções. Esses pacientes não desenvolveram infecções durante o episódio de janeiro a fevereiro. Todos os pacientes tiveram cateteres venosos; esses tubos são inseridos em uma veia para administração a longo prazo de soluções concentradas, como drogas anticancerosas.
   Qual é o próximo passo?
4. Investigações locais confirmaram que as clínicas dos pacientes não usavam mais e tinham devolvida a heparina recolhida. Culturas da nova heparina utilizada não recuperaram organismos.
   O que fazer a seguir?
5. Culturas sanguíneas e dos cateteres foram feitas (Figura B).
   Qual é o resultado mostrado na Figura B?
6. *P. fluorescens* foi cultivado de 15 pacientes e 17 cateteres. Estes foram os primeiros casos conhecidos de infecções sanguíneas substancialmente retardadas (84 a 421 dias) após exposição a uma solução intravenosa contaminada.
   Qual foi a fonte das infecções?
7. Microscopia eletrônica de varredura no Centro para Controle e Prevenção de Doenças mostrou que *P. fluorescens* colonizou o interior dos cateteres pela formação de biofilmes; estudos prévios de microscopia eletrônica indicaram que praticamente todos os cateteres vasculares ficam colonizados por micro-organismos encravados em uma camada de biofilme. A heparina foi descrita como estimulante da formação de biofilme.
   Por que *P. fluorescens* causa infecção em uma média de 237 dias após exposição à heparina contaminada?
8. Embora *P. fluorescens* possa não ter entrado na circulação sanguínea dos pacientes em quantidades suficientes para causar sintomas na exposição inicial à heparina contaminada, a formação do biofilme permitiu às bactérias persistir nos cateteres. As bactérias podem ter proliferado no biofilme, tendo sido retiradas pelas soluções intravenosas não contaminadas subsequentes e liberadas na corrente sanguínea, causando finalmente os sintomas.

Figura A Ocorrência de infecções sanguíneas por *P. fluorescens* em pacientes com cateteres intravenosos.

Figura B. *P. fluorescens* é um bastonete aeróbico gram-negativo que cresce melhor em temperaturas de aproximadamente 25 a 30°C e cresce pouco na temperatura de incubação padrão das estufas microbiológicas hospitalares (cerca de 36°C). As bactérias produzem um pigmento que aparece fluorescente sob luz ultravioleta.

Fonte: adaptado do *MMWR* 55 (35): 961-963 (8/9/06).

Os quadros Foco Clínico contêm dados do *Morbidity and Mortality Weekly Report* (Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade) do CDC, na forma de problemas de resolução clínica e questões que auxiliam os estudantes a desenvolver o pensamento crítico.

Os estudantes devem tentar responder às questões à medida que analisam o caso clínico, colocando-se no papel de um profissional da saúde.

Os quadros Doenças em Foco organizam informações sobre doenças semelhantes e encorajam os estudantes a pensar como clínicos.

Tabelas de doenças estão organizadas com base em sintomas similares, apresentando informações resumidas de uma forma relevante às situações clínicas

Existem 23 quadros Doenças em Foco nesta edição, e 17 deles são novos. Para uma lista completa de tópicos, veja a página xxix.

DOENÇAS EM FOCO 23.2

Infecções de reservatórios animais transmitidas por contato direto

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. As doenças a seguir devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de pacientes com exposição a animais. Por exemplo, uma garota de 10 anos foi hospitalizada depois de apresentar febre (40°C) por 12 dias e dores nas costas por oito dias. As bactérias não puderam ser cultivadas a partir dos tecidos. Ela apresentou uma história recente de arranhaduras por cão e gato. A paciente se recuperou sem tratamento. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Arranhadura infectada da paciente.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Modo de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS					
Brucelose	*Brucella* spp.	Abscesso local; febre ondulante	Mamíferos de pastejo	Contato direto	Tetraciclina; estreptomicina
Antraz	*Bacillus anthracis*	Pápula (cutânea); diarreia sanguinolenta (gastrintestinal); choque séptico (inalatório)	Solo; grandes mamíferos de pastejo	Contato direto; ingestão; inalação	Ciprofloxacino; doxiciclina
Mordidas de animais	*Pasteurella multocida*	Infeção local; sepse	Bocas dos animais	Mordidas de cão/gato	Penicilina
Febre da mordida do rato	*Streptobacillus moniliformis, Spirillum minus*	Sepse	Ratos	Mordidas de ratos	Penicilina
Doença da arranhadura do gato	*Bartonella henselae*	Febre prolongada	Gatos domésticos	Mordidas ou arranhaduras de gato, pulgas	Antibióticos
DOENÇAS PARASITÁRIAS					
Toxoplasmose	*Toxoplasma gondii*	Doença branda; uma infecção inicial adquirida durante a gravidez pode ser prejudicial ao feto; doença grave em pacientes com Aids	Gatos domésticos	Ingestão	Pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico

SUMÁRIO RESUMIDO

SUMÁRIO

12 Eucariotos: Fungos, Algas, Protozoários e Helmintos 329

13 Vírus, Viroides e Prions 367

14 Princípios de Doença e Epidemiologia 399

25 Doenças Microbianas do Sistema Digestório 705

26 Doenças Microbianas dos Sistemas Urinário e Reprodutivo 743

DESTAQUES

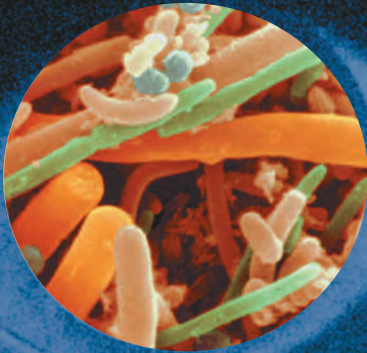
FIGURAS FUNDAMENTAIS

FOCO CLÍNICO

APLICAÇÕES DA MICROBIOLOGIA

DOENÇAS EM FOCO

1 O Mundo Microbiano e Você

O tema central deste livro-texto é a relação entre os micróbios (organismos muito pequenos que em geral somente podem ser visualizados com o uso de um microscópio) e nossas vidas. Essa relação não envolve somente os efeitos prejudiciais de certos micro-organismos, como doenças e deterioração dos alimentos, mas também seus efeitos benéficos. Neste capítulo, apresentaremos de que forma os micróbios afetam as nossas vidas. Eles têm sido estudados continuamente, como será visto na história resumida sobre a microbiologia que inicia este capítulo. Então discutiremos a grande diversidade de micro-organismos e sua importância ecológica na manutenção do equilíbrio do ambiente pela reciclagem dos elementos químicos, como o carbono e o nitrogênio, entre o solo, os organismos e a atmosfera. Examinaremos também como os micróbios são utilizados em aplicações comerciais e industriais para produzir alimentos, químicos e drogas (como antibióticos), e também para o tratamento de detritos, o controle de pestes e a limpeza de poluentes. Finalmente, discutiremos o papel dos micróbios como agentes causadores de doenças como a gripe aviária, a encefalite do oeste do Nilo, a doença da "vaca louca", a diarreia, a febre hemorrágica e a Aids.

SOB O MICROSCÓPIO
Bactérias sobre a língua. A maioria das bactérias descobertas na boca é inofensiva.

P&R

Os comerciais anunciam que as bactérias e os vírus estão em toda a parte da sua casa e que você deve comprar produtos de limpeza antibacterianos. Você realmente deveria fazer isto?

Procure pela resposta neste capítulo.

Os micróbios em nossas vidas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

1-1 Citar várias maneiras pelas quais os micróbios afetam nossas vidas.

Para muitas pessoas, as palavras *germe* e *micróbio* representam um grupo de criaturas minúsculas que não se encaixam muito bem nas categorias de uma pergunta antiga: "É um animal, vegetal ou mineral?" Os **micróbios**, também chamados de **micro-organismos**, são formas de vida diminuta individualmente muito pequenas para serem vistas a olho nu. O grupo inclui bactérias (Capítulo 11), fungos (leveduras e fungos filamentosos), protozoários e algas microscópicas (Capítulo 12). Neste grupo também estão os vírus, entidades acelulares algumas vezes consideradas a fronteira entre seres vivos e não vivos (Capítulo 13). Você será apresentado a cada um desses grupos de micróbios em breve.

Tendemos a associar estes pequenos organismos somente a doenças graves como a Aids, as infecções desagradáveis, ou inconvenientes comuns como a deterioração de alimentos. Contudo, a maioria dos micro-organismos contribui de modo essencial na manutenção do equilíbrio dos organismos vivos e dos elementos químicos no nosso ambiente. Micro-organismos marinhos e de água doce constituem a base da cadeia alimentar em oceanos, lagos e rios. Micróbios do solo ajudam a degradar detritos e incorporam nitrogênio gasoso do ar em compostos orgânicos, reciclando assim os elementos químicos entre o solo, a água, os seres vivos e o ar. Certos micróbios têm um papel fundamental na *fotossíntese*, um processo gerador de oxigênio e alimento que é crucial para a vida na Terra. Os seres humanos e muitos outros animais dependem dos micróbios em seus intestinos para a digestão e a síntese de algumas vitaminas que seus corpos requerem, incluindo algumas vitaminas do complexo B, para o metabolismo, e vitamina K, para a coagulação do sangue.

Os micro-organismos também possuem muitas aplicações comerciais, sendo usados na síntese de produtos químicos como vitaminas, ácidos orgânicos, enzimas, alcoóis e muitas drogas. Os processos pelos quais os micróbios produzem acetona e butanol foram descobertos em 1914 por Chaim Weizmann, um químico nascido na Rússia, trabalhando na Inglaterra. Quando a Primeira Guerra Mundial iniciou, em agosto daquele ano, a produção de acetona foi muito importante para a fabricação de *cordite* (uma forma de pólvora sem fumaça utilizada em munições). A descoberta de Weizmann teve um papel significativo no resultado da guerra.

A indústria de alimentos também usa micróbios para produzir vinagre, chucrute, picles, bebidas alcoólicas, azeitonas verdes, molho de soja, manteiga, queijos, iogurte e pão. Além disso, enzimas produzidas por micróbios podem ser manipuladas de modo que os micróbios produzam substâncias que normalmente não sintetizariam. Estas substâncias incluem celulose, digestivos e compostos para limpeza de tubulações, além de substâncias de grande importância terapêutica como a insulina. As enzimas microbianas podem até mesmo ter ajudado a produzir o seu jeans favorito (veja o quadro na página ao lado).

Apesar de apenas uma minoria dos micro-organismos ser **patogênica** (causadora de doenças), o conhecimento prático sobre os micróbios é necessário para a medicina e as ciências relacionadas à saúde. Por exemplo, os funcionários de hospitais devem ser capazes de proteger os pacientes de micróbios comuns, que normalmente são inofensivos, mas podem ser nocivos para pessoas doentes e debilitadas.

Atualmente sabemos que os micro-organismos são encontrados em quase todos os lugares. Há até pouco tempo, antes da invenção do microscópio, os micróbios eram desconhecidos para os cientistas. Milhares de pessoas morreram devido a epidemias devastadoras, cujas causas não eram conhecidas. Famílias inteiras morreram porque as vacinas e os antibióticos não estavam disponíveis para combater as infecções.

Podemos ter uma ideia de como nossos conceitos atuais sobre microbiologia se desenvolveram observando alguns dos marcos históricos da microbiologia que modificaram as nossas vidas. Primeiro, contudo, iremos observar os principais grupos microbianos e como os micro-organismos são nomeados e classificados.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Descreva algumas das ações benéficas e maléficas dos micróbios. **1-1***

Nomeando e classificando os micro-organismos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

1-2 Reconhecer o sistema de nomenclatura científica que utiliza dois nomes: um gênero e um epíteto específico.

1-3 Diferenciar as principais características de cada grupo de micro-organismo.

1-4 Listar os três domínios microbianos.

Nomenclatura

O sistema de nomenclatura (nomeação) para organismos em uso atualmente foi estabelecido em 1735 por Carolus Linnaeus. Os nomes científicos são latinizados porque o latim era a língua tradicionalmente utilizada pelos estudantes. A nomenclatura científica designa para cada organismo dois nomes – o **gênero** é o primeiro nome, sendo sempre iniciado com letra maiúscula; o segundo nome é o **epíteto específico** (nome das **espécies**), escrito sempre em letra minúscula. O organismo é designado pelos dois nomes, o gênero e o epíteto específico, e ambos são escritos em itálico ou sublinhados. Por convenção, após um nome científico ter sido mencionado uma vez, ele pode ser abreviado com a inicial do gênero seguida pelo epíteto específico.

Os nomes científicos podem, entre outras coisas, descrever um organismo, homenagear um pesquisador ou identificar os hábitos de uma espécie. Por exemplo, considere o *Staphylococcus aureus*, uma bactéria comumente encontrada na pele humana. *Staphylo* descreve o arranjo em cacho das células desta bactéria; *coccus* indica que as células têm a forma semelhante a esferas. O epíteto específico, *aureus*, significa ouro em latim, a cor de muitas colônias dessa bactéria. A **Tabela 1.1** contém mais exemplos. As basctérias do gê-

* Os números em laranja logo após as perguntas de TESTE SEU CONHECIMENTO se referem aos OBJETIVOS DO APRENDIZADO correspondentes.

Projeto de jeans: feito por micróbios?

O jeans azul de brim tem se tornado cada vez mais popular desde que Levi Strauss e Jacob Davis fizeram a primeira calça jeans para os mineradores de ouro da Califórnia em 1873. Atualmente, as companhias que fabricam os jeans azuis estão voltando-se para a microbiologia para desenvolver métodos de produção ambientalmente seguros, que minimizem os resíduos tóxicos e os custos associados com o tratamento destes resíduos. Além disso, os métodos microbiológicos podem providenciar matéria-prima renovável abundante.

Stone Washing?

Um brim mais maleável, chamado de *Stone--washed*, foi introduzido na década de 1980. O tecido não é realmente lavado com pedras. Enzimas, chamadas de celulases, produzidas pelo fungo *Trichoderma*, são usadas para digerir parte da celulose do algodão, portanto amaciando--o. Ao contrário de muitas reações químicas, as enzimas em geral atuam em temperaturas e pHs seguros. Além disso, as enzimas são proteínas, sendo portanto facilmente degradadas para remoção do esgoto doméstico.

Tecido

A produção de algodão requer grandes extensões de terra e enormes quantidades de pesticidas e fertilizantes, e o rendimento da colheita depende do clima. Contudo, as bactérias podem produzir algodão e poliéster com menos impacto ambiental. *Gluconacetobacter xylinus* produz celulose ligando unidades de glicose em cadeias simples na membrana externa da parede celular bacteriana. As microfibrilas de celulose são expulsas através de poros na membrana externa, e pacotes de microfibrilas são entrelaçados nas tiras.

Branqueamento

O peróxido é um agente branqueador mais seguro que o cloro e pode ser facilmente removido do tecido e do esgoto doméstico por enzimas. Os pesquisadores da *Novo Nordisk Biotech* clonaram um gene de peroxidase de cogumelo em leveduras e cresceram as leveduras em condições de máquina de lavar. As leveduras que sobreviveram foram selecionadas como produtoras de peroxidase.

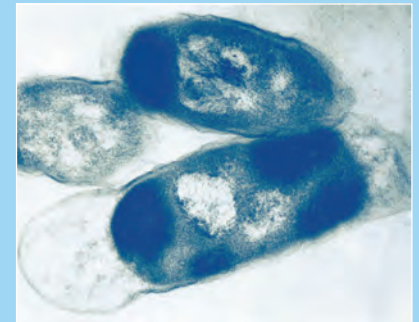
Índigo

A síntese química de índigo azul-escuro requer um pH elevado e produz resíduos que explodem em contato com o ar. Contudo, uma companhia de biotecnologia da Califórnia, a Genencor, desenvolveu um método para produzir índigo utilizando bactérias. Nos laboratórios da Genencor, os pesquisadores introduziram o gene de uma bactéria do solo, *Pseudomonas putida*, responsável pela conversão do indol (subproduto bacteriano formado a partir da degradação do triptofano) em índigo dentro da bactéria *Escherichia coli*, que ficou azul.

Plástico

Os micro-organismos podem até mesmo produzir zíperes plásticos e material de embalagem para os jeans. Cerca de 25 bactérias produzem grânulos de inclusão de poliidroxialcanoato (PHA) como reserva alimentar. PHAs são similares aos plásticos comuns e, por serem produzidos por bactérias, também são facilmente degradados por muitas bactérias. PHAs podem representar um material biodegradável alternativo para substituir o plástico convencional, feito a partir de petróleo.

A bactéria *E. coli* produz índigo a partir de triptofano.

Bacteria *E. coli* produtora de índigo.

0,3 μm

MET

nero *Escherichia coli* foram nomeadas em homenagem ao cientista Theodor Escherich, enquanto o epíteto específico, *coli*, lembra-nos que a *E. coli* vive no colo ou intestino grosso.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Diferencie um gênero de um epíteto específico. **1-2**

Tipos de micro-organismos

A classificação e a identificação de micro-organismos são discutidas no Capítulo 10. Aqui apresentaremos uma visão geral dos principais grupos.

Bactérias

Bactérias (do latim, **bacteria**, singular: *bacterium*) são organismos relativamente simples e de uma única célula (unicelulares). Como

Tabela 1.1 Familiarizando-se com os nomes científicos

Use o guia de raízes das palavras do Apêndice E para descobrir o significado de cada nome. Ele não parecerá tão estranho se você traduzi-lo. Quando encontrar um novo nome, pratique falando-o em voz alta. A pronúncia exata não é tão importante quanto a familiaridade com os nomes. Os guias para a pronúncia são apresentados no Apêndice D.

Os exemplos de nomes microbianos a seguir podem ser encontrados na imprensa popular e no laboratório.

	Fonte do nome genérico	Fonte do epíteto específico
Salmonella typhimurium (bactéria)	Em homenagem ao microbiologista de saúde pública Daniel Salmon	Provoca estupor (*typh-*) em ratos (*muri-*)
Streptococcus pyogenes (bactéria)	Aparência de células em cadeias (*strepto-*)	Produz pus (*pyo-*)
Saccharomyces cerevisiae (levedura)	Fungo (*-myces*) que usa açúcar (*saccharo-*)	Produz cerveja (*cerevisia*)
Penicillium chrysogenum (fungo)	Forma de tufo ou pincel (*penicill-*) sob o microscópio	Produz um pigmento amarelo (*chryso-*)
Trypanosoma cruzi (protozoário)	Aparência espiralada, como um saca-rolha (*Trypano*-broca; *Soma*--corpo)	Em homenagem ao epidemiologista Oswaldo Cruz

o material genético não é envolto por uma membrana nuclear, as células bactérias são chamadas de **procariotos**, palavra grega significando pré-núcleo. Os procariotos incluem as bactérias e as arquibactérias.

As células bacterianas apresentam uma entre as várias formas possíveis. Os *bacilos* (em forma de bastão), ilustrado na **Figura 1.1a**, os *cocos* (esféricos ou ovoides) e os *espirilos* (em forma de saca-rolha ou curvados) estão entre as formas mais comuns, mas algumas bactérias apresentam forma de estrela ou quadrada (veja as Figuras 4.1 a 4.5, nas páginas 78 e 79). As bactérias podem formar pares, cadeias, grupos ou outros agrupamentos; tais formações geralmente são características de um gênero particular ou uma espécie de bactérias.

As bactérias são envolvidas por uma parede celular que é praticamente composta por um complexo de carboidrato e proteína chamado de *peptideoglicano*. (Por comparação, a celulose é a principal substância das paredes celulares de plantas e algas.) As bactérias geralmente se reproduzem por divisão em duas células iguais; esse processo é chamado de *fissão binária*. Para a sua nutrição, a maioria das bactérias usa compostos orgânicos encontrados na natureza derivados de organismos vivos ou mortos. Algumas bactérias podem fabricar o seu próprio alimento por fotossíntese, e algumas obtêm seu alimento a partir de compostos inorgânicos. Muitas bactérias podem "nadar" usando apêndices de movimento chamados de *flagelos*. (Para uma discussão completa sobre bactérias, veja o Capítulo 11.)

Archaea

Como as bactérias, as **arquibactérias** são células procarióticas, porém, quando possuem paredes celulares, estas não são compostas por peptideoglicano. As arquibactérias, frequentemente encontradas em ambientes extremos, são divididas em três grupos principais. As *metanogênicas* produzem metano como resultado da respiração. As *halofílicas extremas* (*halo* = sal; *filo* = amigo) vivem em ambientes muito salinos, como o "Great Salt Lake" e o Mar Morto. As *termofílicas extremas* (*termo* = quente) vivem em águas sulfurosas e quentes, como as fontes termais do Parque Nacional Yellowstone. As arquibactérias não são conhecidas como causadoras de doenças em humanos.

Fungos

Os **fungos** são **eucariotos**, organismos que possuem um núcleo definido, que contém o material genético (DNA), envolto por um envelope especial chamado de membrana nuclear. Os organismos do Reino dos Fungos podem ser unicelulares ou multicelulares (veja o Capítulo 12, página 330). Os maiores fungos multicelulares, como os cogumelos, podem parecer algumas vezes com plantas, mas não realizam fotossíntese, característica da maioria das plantas. Os fungos verdadeiros têm parede celular composta principalmente por uma substância chamada de *quitina*. As formas unicelulares dos fungos, as *leveduras*, são micro-organismos ovais que são maiores que as bactérias. Os fungos mais típicos são os *bolores* (fungos filamentosos, **Figura 1.1b**). Os bolores formam massas visíveis chamadas de *micélios*, compostas de longos filamentos (*hifas*) que se ramificam e se entrelaçam. Os crescimentos cotonosos (semelhantes ao algodão) que algumas vezes são vistos sobre o pão e as frutas são micélios de fungos. Os fungos podem se reproduzir sexuada e assexuadamente. Eles obtêm a alimentação por meio da absorção de soluções de matéria orgânica presente no ambiente, que pode ser o solo, a água do mar, a água doce, um animal ou uma planta hospedeira. Os organismos conhecidos como *fungos gelatinosos* apresentam características tanto de fungos quanto de amebas. Eles serão discutidos em detalhes no Capítulo 12.

Protozoários

Os **protozoários** (do latim, **protozoa**, singular: *protozoan*) são micróbios unicelulares eucarióticos (veja o Capítulo 12, página 345). Os protozoários se movimentam por meio de pseudópodes, flagelos ou cílios. As amebas (**Figura 1.1c**) movimentam-se usando extensões dos seus citoplasmas chamadas de *pseudópodes* (falsos pés). Outros protozoários possuem longos *flagelos* ou numerosos apên-

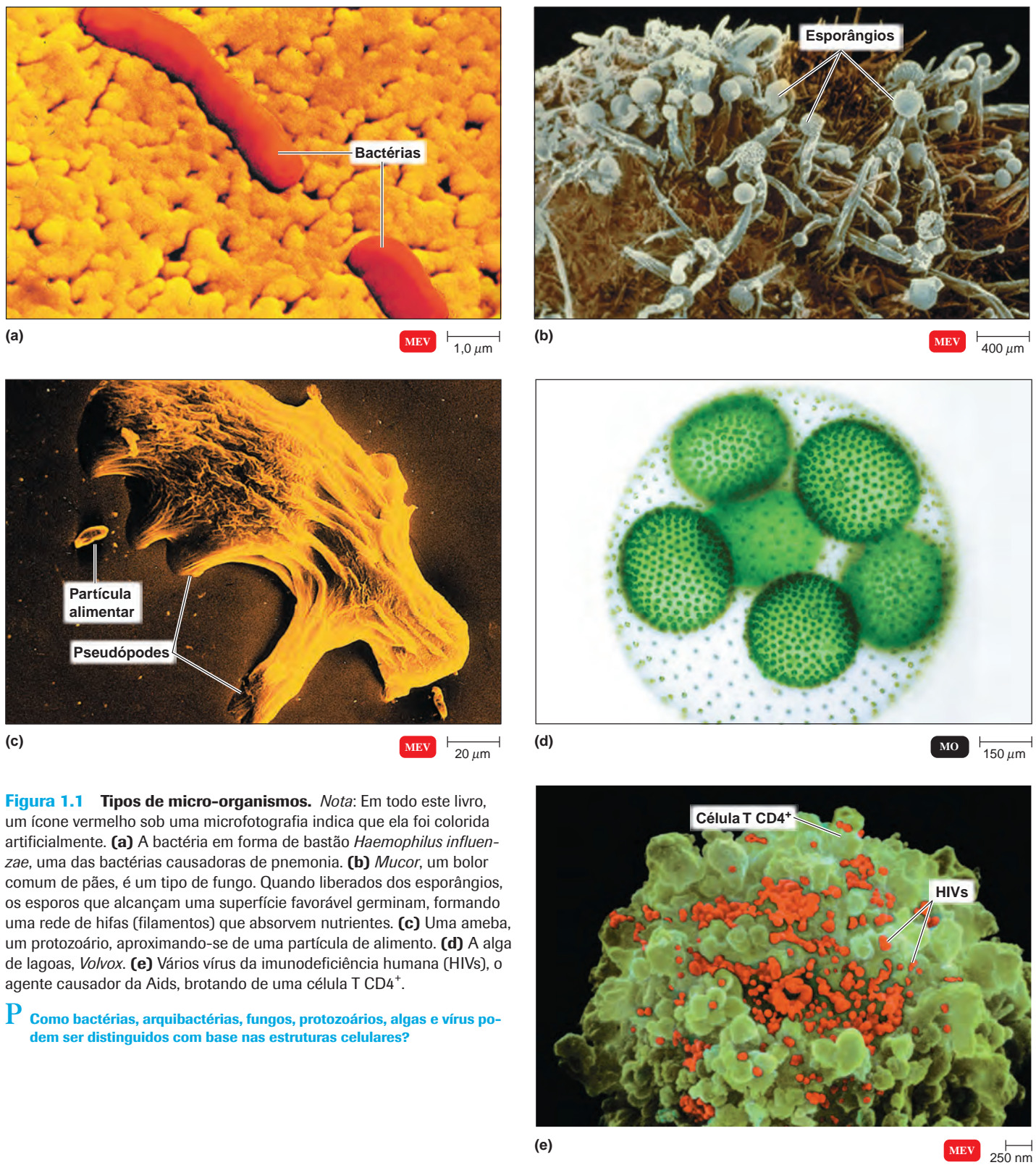



Figura 1.1 **Tipos de micro-organismos.** *Nota*: Em todo este livro, um ícone vermelho sob uma microfotografia indica que ela foi colorida artificialmente. **(a)** A bactéria em forma de bastão *Haemophilus influenzae*, uma das bactérias causadoras de pnemonia. **(b)** *Mucor*, um bolor comum de pães, é um tipo de fungo. Quando liberados dos esporângios, os esporos que alcançam uma superfície favorável germinam, formando uma rede de hifas (filamentos) que absorvem nutrientes. **(c)** Uma ameba, um protozoário, aproximando-se de uma partícula de alimento. **(d)** A alga de lagoas, *Volvox*. **(e)** Vários vírus da imunodeficiência humana (HIVs), o agente causador da Aids, brotando de uma célula T CD4$^+$.

P **Como bactérias, arquibactérias, fungos, protozoários, algas e vírus podem ser distinguidos com base nas estruturas celulares?**

dices curtos para locomoção chamados de *cílios*. Os protozoários apresentam uma variedade de formas e vivem como entidades de vida livre ou *parasitas* (organismos que retiram os seus nutrientes de outros organismos vivos), absorvendo ou ingerindo compostos orgânicos do ambiente. Os protozoários podem se reproduzir sexuada ou assexuadamente.

Algas

As **algas** (do latim, **algae**, singular: *alga*) são eucariotos fotossintéticos com uma ampla variedade de formas e com os dois tipos de reprodução, sexuada e assexuada (**Figura 1.1d**). As algas de interesse para os microbiologistas em geral são unicelulares (veja o Capítulo 12, página 340). As paredes celulares de muitas algas são compostas de um carboidrato chamado de *celulose*. As algas são abundantes em água doce e salgada, no solo e em associação com plantas. Como fotossintetizadoras, as algas necessitam de luz, água e dióxido de carbono para a produção de alimento e para seu crescimento, mas geralmente não requerem compostos orgânicos do ambiente. Como resultado da fotossíntese, as algas produzem oxigênio e carboidratos, que são então utilizados por outros organismos, incluindo os animais. Dessa forma, possuem um papel importante no equilíbrio da natureza.

Vírus

Os **vírus** (**Figura 1.1e**) são muito diferentes dos outros grupos microbianos mencionados aqui. Eles são tão pequenos que a maioria pode ser vista apenas com o auxílio de um microscópio eletrônico, sendo também acelulares (não são células). A partícula viral é muito simples estruturalmente, contendo um núcleo formado somente por um tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA. Esse núcleo é circundado por um envoltório proteico. Algumas vezes, o envoltório é revestido por uma camada adicional, uma membrana lipídica chamada de envelope. Todas as células vivas têm RNA *e* DNA, podem conduzir reações químicas e se reproduzir como unidades autossuficientes. Os vírus só podem se reproduzir usando a maquinaria celular de outros organismos. Dessa forma, os vírus são considerados vivos quando estão multiplicando dentro das células hospedeiras que infectam. Nesse sentido, os vírus são parasitas de outras formas de vida. Por outro lado, os vírus não são considerados como seres vivos porque, fora dos organismos hospedeiros, eles ficam inertes. (Os vírus serão discutidos em detalhes no Capítulo 13.)

Parasitas multicelulares de animais

Embora os parasitas multicelulares de animais não sejam exclusivamente micro-organismos, eles têm importância médica e, portanto, serão discutidos neste texto. Os animais são eucariotos. Os dois principais grupos de vermes parasitas são os vermes chatos e os vermes redondos, coletivamente chamados de **helmintos** (veja o Capítulo 12, página 352). Durante alguns estágios do ciclo de vida, os helmintos são de tamanho microscópico. A identificação laboratorial desses organismos inclui muitas das mesmas técnicas usadas para a identificação dos micróbios.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais grupos de micróbios são procariotos? Quais são eucariotos? **1-3**

Classificação dos micro-organismos

Antes que a existência dos micróbios fosse conhecida, todos os organismos eram agrupados no reino animal ou no reino vegetal. Quando organismos microscópicos com características de animais e vegetais foram descobertos no final do século XVII, um novo sistema de classificação se tornou necessário. Ainda assim, os biólogos não conseguiram chegar a um acordo sobre os critérios utilizados para classificar os novos organismos que estavam sendo descobertos, até o final da década de 1970.

Em 1978, Carl Woese desenvolveu um sistema de classificação com base na organização celular dos organismos. Todos os organismos foram agrupados em três domínios, como segue:

1. Bacteria (as paredes celulares contêm um complexo carboidrato-proteína chamado de peptideoglicano).
2. Archaea (as paredes celulares, se presentes, não possuem peptideoglicano).
3. Eukarya, que inclui os seguintes grupos:
   - Protista (fungos gelatinosos, protozoários e algas).
   - Fungi (leveduras unicelulares, bolores multicelulares e cogumelos).
   - Plantae (que inclui musgos, samambaias, coníferas e plantas com flores).
   - Animalia (que inclui esponjas, vermes, insetos e vertebrados).

A classificação será discutida em mais detalhes nos Capítulos de 10 a 12.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são os três domínios da vida? **1-4**

Uma breve história da microbiologia

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

1-5 Explicar a importância das observações feitas por Hooke e van Leeuwenhoek.

1-6 Comparar a geração espontânea e a biogênese.

1-7 Identificar as contribuições feitas por Needham, Spallanzani, Virchow e Pasteur para a microbiologia.

1-8 Explicar como o trabalho de Pasteur influenciou Lister e Koch.

1-9 Identificar a importância dos postulados de Koch.

1-10 Identificar a importância do trabalho de Jenner.

1-11 Identificar as contribuições feitas por Ehrlich e Fleming para a microbiologia.

1-12 Definir *bacteriologia, micologia, parasitologia, imunologia* e *virologia*.

1-13 Explicar a importância da genética microbiana e da biologia molecular.

A ciência da microbiologia iniciou há apenas 200 anos, contudo a recente descoberta de DNA de *Mycobacterium tuberculosis* em uma múmia egípcia de 3.000 anos indica que os micro-organismos têm estado por muito mais tempo ao nosso redor.

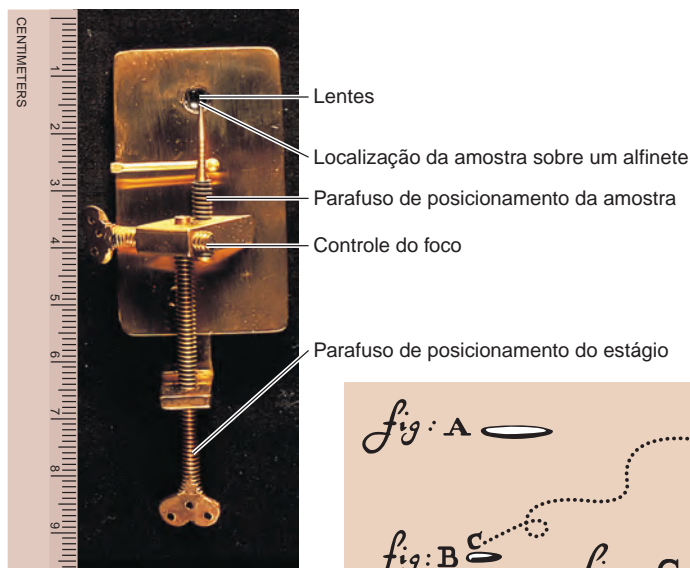
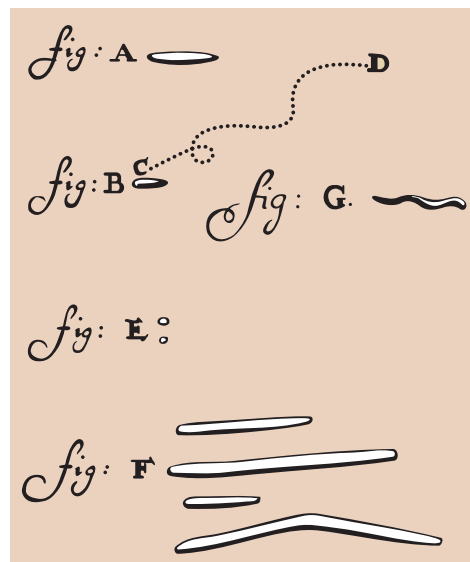
(a) Van Leeuwenhoek utilizando seu microscópio

(b) Réplica de um microscópio

(c) Desenhos de bactérias

Figura 1.2 **Observações microscópicas de Anton van Leeuwenhoek.** **(a)** Ao segurar seu microscópio próximo a uma fonte de luz, van Leeuwenhoek conseguiu observar organismos vivos que eram muito pequenos para serem vistos a olho nu. **(b)** A amostra foi colocada na extremidade de um ponto ajustável e vista do outro lado através de lentes finas, quase esféricas. A maior ampliação possível com esse microscópio foi de cerca de 300x (vezes). **(c)** Alguns dos desenhos de bactérias de van Leeuwenhoek, feitos em 1683. As letras representam várias formas de bactérias. C-D representa a trajetória do movimento observado por ele.

P **Qual foi a maior contribuição de van Leeuwenhoek para a microbiologia?**

Na verdade, os ancestrais bacterianos foram as primeiras células vivas a aparecer na Terra. Embora saibamos muito pouco a respeito do que os povos primitivos pensavam sobre as causas, a transmissão e o tratamento de doenças, a história que se passou a poucas centenas de anos atrás é mais bem conhecida. Examinaremos agora alguns conhecimentos da microbiologia que impulsionaram o progresso desse campo para o estágio altamente tecnológico atual.

As primeiras observações

Uma das mais importantes descobertas na história da biologia ocorreu em 1665 com a ajuda de um microscópio relativamente muito simples. Após observar uma fina fatia de cortiça, o inglês Robert Hooke relatou ao mundo que as menores unidades vivas eram "pequenas caixas", ou "células", como ele as chamou. Utilizando uma versão melhorada de um microscópio composto (que utilizava dois jogos de lentes), Hooke conseguiu vizualizar as células individualmente. A descoberta de Hooke marcou o início da **teoria celular** – a teoria em que *todas as coisas vivas são compostas por células*. Investigações subsequentes a respeito da estrutura e das funções das células tiveram como base essa teoria.

Embora o microscópio de Hooke fosse capaz de mostrar células grandes, não tinha resolução suficiente que permitisse a ele ver claramente os micróbios. É provável que o mercador holandês e cientista amador Anton van Leeuwenhoek tenha sido o primeiro a realmente observar micro-organismos vivos através de lentes de aumento de mais de 400 microscópios que ele fabricou. Entre 1673 e 1723, ele escreveu uma série de cartas para a Sociedade Real de Londres descrevendo os "animálculos" que ele viu através de seu microscópio simples de uma única lente. Van Leeuwenhoek fez desenhos detalhados de "animálculos" de água da chuva, de suas próprias fezes e de material raspado de seus dentes. Esses desenhos foram identificados como representações de bactérias e protozoários (**Figura 1.2**).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a teoria celular? **1-5**

O debate sobre a geração espontânea

Após van Leeuwenhoek descobrir o antes "invisível" mundo dos micro-organismos, a comunidade científica da época ficou interessada na origem dessas minúsculas coisas vivas. Até a segunda

metade do século XIX, muitos cientistas e filósofos acreditavam que algumas formas de vida poderiam surgir espontaneamente da matéria morta; eles chamaram esse processo hipotético de **geração espontânea**. Não mais do que 100 anos atrás, as pessoas acreditavam que sapos, cobras e camundongos poderiam nascer do solo úmido; que moscas poderiam surgir do estrume; e que larvas de insetos, como larvas de moscas, poderiam surgir de corpos em decomposição.

Evidências pró e contra

Um forte oponente da geração espontânea, o físico italiano Francesco Redi começou em 1668 (antes mesmo da descoberta da vida microscópica por van Leeuwenhoek) a demonstrar que as larvas de insetos não surgiam espontaneamente de carne apodrecida. Redi encheu duas jarras com carne em decomposição. A primeira foi deixada aberta; as moscas depositaram os seus ovos sobre a carne, e os ovos se desenvolveram em larvas. A segunda jarra foi selada, e, como as moscas não puderam colocar os ovos sobre a carne, as larvas não apareceram. Ainda assim, os antagonistas de Redi não se convenceram; eles argumentavam que o ar fresco era necessário para ocorrer a geração espontânea. Então Redi realizou um segundo experimento, no qual uma jarra foi coberta com uma fina rede em vez de ser lacrada. Nenhuma larva apareceu na jarra coberta com a rede, embora o ar estivesse presente. As larvas de insetos somente apareciam quando as moscas podiam depositar seus ovos sobre a carne.

Os resultados de Redi foram um forte golpe no antigo conceito de que as formas grandes de vida poderiam surgir de formas não vivas. Contudo, muitos cientistas ainda acreditavam que organismos pequenos, como os "animálculos" de van Leeuwenhoek, eram simples o bastante para serem gerados a partir de materiais não vivos.

O conceito de geração espontânea dos micro-organismos parece ter sido fortalecido em 1745, quando o inglês John Needham descobriu que, mesmo após aquecer caldos nutrientes (como caldo de galinha e caldo de milho) antes de colocá-los em frascos fechados, as soluções resfriadas eram logo ocupadas por micro-organismos. Needham considerou que os micróbios desenvolviam-se espontaneamente a partir de caldos. Vinte anos depois, Lazzaro Spallanzani, um cientista italiano, sugeriu que os micro-organismos do ar teriam entrado nas soluções de Needham após estas terem sido fervidas. Spallanzani demonstrou que os caldos nutrientes aquecidos *após* serem lacrados em um frasco não apresentavam desenvolvimento microbiano. Needham respondeu alegando que a "força vital" necessária para a geração espontânea tinha sido destruída pelo calor e foi mantida fora dos frascos pelos lacres.

Essa "força vital" imaginária recebeu ainda mais crédito pouco tempo após o experimento de Spallanzani, quando Anton Laurent Lavoisier mostrou a importância do oxigênio para a vida. As observações de Spallanzani foram criticadas com o argumento de que não existia oxigênio suficiente nos frascos lacrados para o desenvolvimento da vida microbiana.

A teoria da biogênese

A questão ainda não estava resolvida em 1858, quando o cientista alemão Rudolf Virchow desafiou o conceito da geração espontânea com o conceito da **biogênese**, que argumentava que células vivas poderiam surgir somente de células vivas preexistentes. Os argumentos sobre a geração espontânea continuaram até 1861, quando a questão foi resolvida pelo cientista francês Louis Pasteur.

Com uma série de engenhosos e persuasivos experimentos, Pasteur demonstrou que os micro-organismos estavam presentes no ar e podiam contaminar soluções estéreis, mas o ar por si só não podia criar micróbios. Ele encheu vários frascos, que tinham a abertura em forma de pescoço curto, com caldo de carne e então ferveu o conteúdo. Alguns deles ele deixou que esfriassem abertos. Em poucos dias, esses frascos estavam contaminados com micróbios. Os outros frascos, lacrados após a fervura, estavam livres de micro-organismos. A partir desses resultados, Pasteur concluiu que os micróbios no ar foram os agentes responsáveis pela contaminação da matéria não viva, como nos caldos dos frascos de Needham.

Pasteur, a seguir, colocou um meio de cultura em frascos com a extremidade da abertura no formato de um pescoço longo e curvou esse pescoço na forma da letra S (**Figura 1.3**). Os conteúdos dos frascos foram então fervidos e resfriados. O meio de cultura nos frascos não apodreceu e não apresentou sinais de vida, mesmo após meses. O modelo único criado por Pasteur permitia que o ar entrasse no frasco, mas o pescoço curvado capturava todos os micro-organismos do ar que poderiam contaminar o meio de cultura. (Alguns desses frascos originais ainda estão em exposição no Instituto Pasteur em Paris. Eles foram lacrados, mas, como o frasco mostrado na Figura 1.3, não mostram sinais de contaminação mais de 100 anos depois da realização do experimento.)

Pasteur mostrou que os micro-organismos podem estar presentes na matéria não viva – sobre sólidos, em líquidos e no ar. Além disso, ele demonstrou conclusivamente que a vida microbiana pode ser destruída pelo calor e que podem ser elaborados métodos para bloquear o acesso de micro-organismos do ar aos ambientes nutritivos. Essas descobertas formam a base das **técnicas de assepsia**, que previnem a contaminação por micro-organismos indesejáveis e que agora são práticas rotineiras para muitos procedimentos médicos e em laboratórios. As técnicas modernas de assepsia estão entre os primeiros e mais importantes conceitos que um iniciante em microbiologia aprende.

O trabalho de Pasteur forneceu evidências de que os micro-organismos não podem se originar das forças místicas presentes em materiais não vivos. Ao contrário, surgimento de vida "espontânea" em soluções não vivas pode ser atribuído aos micro-organismos que já estavam presentes no ar e nos próprios fluidos. Os cientistas agora acreditam que provavelmente uma forma de geração espontânea ocorreu na Terra primitiva, quando a primeira vida surgiu, mas eles concordam que isso não acontece sob as condições ambientais atuais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que evidência indicava a existência de geração espontânea? **1-6**

✓ Como o conceito de geração espontânea foi refutado? **1-7**

A idade de ouro da microbiologia

Por cerca de 60 anos, começando com o trabalho de Pasteur, houve uma explosão de descobertas na microbiologia. O período de 1857

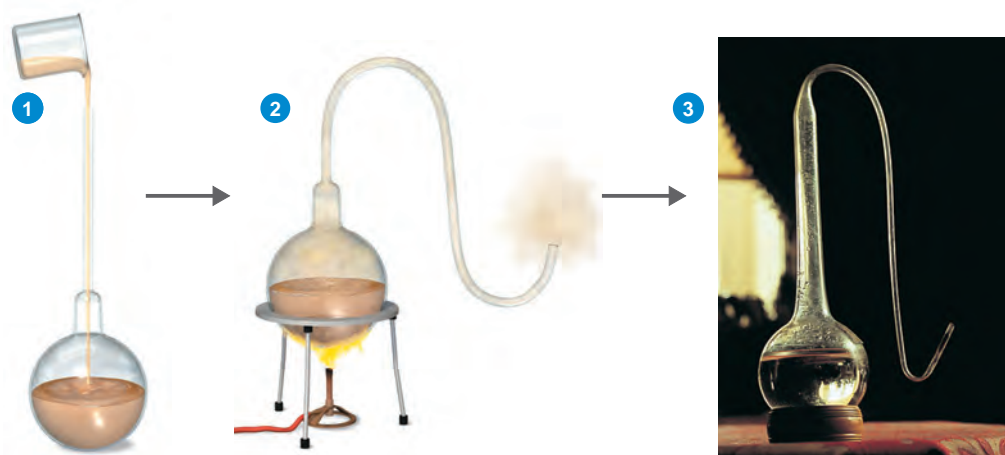



Figura 1.3 **Os experimentos de Pasteur que refutaram a teoria da geração espontânea.** 1 Pasteur colocou, em primeiro lugar, caldo de carne dentro de um frasco de pescoço longo. 2 Em seguida, ele aqueceu o pescoço do frasco e curvou-o no formato da letra S; então, ferveu o caldo de carne por vários minutos. 3 Os micro-organismos não apareceram na solução resfriada, mesmo após longos períodos, como é possível ver nesta fotografia recente de um frasco utilizado por Pasteur em um experimento similar.

P O que são técnicas de assepsia, e como Pasteur contribuiu para o desenvolvimento dessas técnicas?

a 1914 foi apropriadamente chamado de a Idade de Ouro da Microbiologia. Durante esse período, avanços rápidos, liderados principalmente por Pasteur e Robert Koch, levaram ao estabelecimento da microbiologia como uma ciência. As descobertas durante esses anos incluíram tanto os agentes de muitas doenças como o papel da imunidade na prevenção e na cura das doenças. Durante esse período produtivo, os microbiologistas estudaram as atividades químicas de micro-organismos, melhoraram as técnicas de microscopia e cultivo de micro-organismos e desenvolveram vacinas e técnicas cirúrgicas. Alguns dos principais eventos que ocorreram durante a Idade de Ouro da Microbiologia estão listados na Figura 1.4.

Fermentação e pasteurização

Uma das etapas fundamentais, que estabeleceu a relação entre micro-organismos e doenças, ocorreu quando um grupo de mercadores franceses pediu a Pasteur que descobrisse porque o vinho e a cerveja azedavam. Eles esperavam desenvolver um método que impedisse a deterioração dessas bebidas quando enviadas a longas distâncias. Naquele tempo, muitos cientistas acreditavam que o ar convertia os açúcares desses fluidos em álcool. Pasteur descobriu, ao contrário, que micro-organismos chamados de leveduras convertiam os açúcares em álcool na ausência de ar. Esse processo, chamado de **fermentação** (veja o Capítulo 5, página 132), é usado para fazer vinho e cerveja. O azedamento e a deterioração são causados por organismos diferentes, chamados de bactérias. Na presença de ar, as bactérias transformam o álcool da bebida em vinagre (ácido acético).

A solução de Pasteur para o problema da deterioração foi o aquecimento da cerveja e do vinho o suficiente para matar a maioria das bactérias que causavam o estrago. O processo, chamado de **pasteurização**, é agora comumente usado para reduzir a deterioração e matar bactérias potencialmente nocivas no leite, bem como em algumas bebidas alcoólicas. A demonstração da relação entre a deterioração de alimentos e os micro-organismos foi a etapa mais importante para o estabelecimento da relação entre doenças e micróbios.

A teoria do germe da doença

Como já vimos, o fato de que muitos tipos de doenças estão relacionados com os micro-organismos era desconhecido até relativamente pouco tempo. Antes da época de Pasteur, os tratamentos eficazes para muitas doenças foram descobertos por tentativa e erro, mas as causas das doenças eram desconhecidas.

A descoberta de que as leveduras têm um papel fundamental na fermentação foi a primeira ligação entre a atividade de um micro-organismo e as mudanças físicas e químicas nas matérias orgânicas. Essa descoberta alertou os cientistas para a possibilidade de que os micro-organismos pudessem ter relações similares com plantas e animais – especificamente, que os micro-organismos pudessem causar doenças. Essa ideia ficou conhecida como a **teoria do germe da doença**.

A teoria do germe era um conceito difícil de aceitar para muitas pessoas naquela época, porque durante séculos acreditava-se que a doença era um punição para crimes e pecados individuais. Quando os habitantes de toda uma vila ficavam doentes, as pessoas frequentemente colocavam a culpa da doença em demônios que apareciam como odores fétidos de esgotos ou nos vapores venenosos dos pântanos. A maioria das pessoas nascidas na época de Pasteur achava inconcebível que micróbios "invisíveis" poderiam viajar pelo ar e infectar plantas e animais, ou permanecer em roupas e camas para serem transmitidos de uma pessoa para outra. Contudo, gradual-

1665 Hooke – Primeira observação de células
1673 van Leeuwenhoek – Primeira observação de micro-organismos vivos
1735 Linnaeus – Nomenclatura para os organismos
1798 Jenner – Primeira vacina
1835 Bassi – Fungos do bicho-da-seda
1840 Semmelweis – Febre em recém-nascidos
1853 De Bary – Doenças causadas por fungos em plantas

A IDADE DE OURO DA MICROBIOLOGIA

1857 Pasteur – Fermentação
1861 Pasteur – Refutou a geração espontânea
1864 Pasteur – Pasteurização
1867 Lister – Cirurgia asséptica
1876 *Koch – Teoria do germe da doença
1879 Neisser – *Neisseria gonorrhoeae*
1881 *Koch – Culturas puras
Finley – Febre amarela
1882 *Koch – *Mycobacterium tuberculosis*
Hess – Meio sólido (ágar)
1883 *Koch – *Vibrio cholerae*
1884 *Metchnikoff – Fagocitose
Gram – Procedimento de coloração de Gram
Escherich – *Escherichia coli*
1887 Petri – Placas de Petri
1889 Kitasato – *Clostridium tetani*
1890 *van Behring – Antitoxina diftérica
*Ehrlich – Teoria da imunidade
1892 Winogradsky – Ciclo do enxofre
1898 Shiga – *Shigella dysenteriae*
1908 *Ehrlich – Sífilis
1910 Chagas – *Trypanosoma cruzi*
1911 *Rous – Vírus causadores de tumores (Prêmio Nobel em 1966)

1928 *Fleming, Chain, Florey – Penicilina
Griffith – Transformação em bactéria
1934 Lancefield – Antígenos estreptocócicos
1935 *Stanley, Northrup, Sumner – Cristalização de vírus
1941 Beadle e Tatum – Relação entre genes e enzimas
1943 *Delbrück e Luria – Infecção viral de bactéria
1944 Avery, MacLeod, McCarty – O material genético é o DNA
1946 Lederberg e Tatum – Conjugação bacteriana
1953 *Watson e Crick – Estrutura do DNA
1957 *Jacob e Monod – Regulação da síntese proteica
1959 Stewart – Vírus causadores de câncer em humanos
1962 *Edelman e Porter – Anticorpos
1964 Epstein, Achong, Barr – Vírus Epstein-Barr como causa de câncer em humanos
1971 *Nathans, Smith, Arber – Enzimas de restrição (utilizadas na tecnologia do DNA recombinante)
1973 Berg, Boyer, Cohen – Engenharia genética
1975 Dulbecco, Temin, Baltimore – Transcriptase reversa
1978 Woese – Arquibactérias
*Mitchell – Mecanismo quimiosmótico
1981 Margulis – Origem das células eucarióticas
1982 *Klug – Estrutura do vírus do mosaico do tabaco
1983 *McClintock – Transposons

1988 *Deisenhofer, Huber, Michel – Pigmentos fotossintéticos bacterianos
1994 Cano – Relatou ter cultivado uma bactéria de 40 milhões de anos de idade
1997 *Prusiner – Prions

Louis Pasteur (1822-1895)
Demonstrou que a vida não surge espontaneamente de matéria não viva.

Robert Koch (1843-1910)
Estabeleceu as etapas experimentais para relacionar diretamente um micróbio a uma doença específica.

Rebecca C. Lancefield (1895-1981)
Classificou os estreptococos de acordo com os sorotipos (variantes em uma espécie).

Figura 1.4 Fatos mais importantes na microbiologia, ressaltando aqueles que ocorreram durante a Idade de Ouro da Microbiologia. Um asterisco (*) indica um vencedor do Prêmio Nobel.

Por que a Idade de Ouro da Microbiologia recebe esse nome?

mente os cientistas acumularam informações para dar suporte à nova teoria do germe.

Em 1865, Pasteur foi chamado para ajudar no combate à doença do bicho-da-seda, que estava arruinando a indústria da seda em toda a Europa. Anos antes, Agostino Bassi, um microscopista amador, tinha provado que outra doença do bicho-da-seda era causada por um fungo. Utilizando os dados fornecidos por Bassi, Pasteur descobriu que a infecção mais recente era causada por um protozoário, e então, desenvolveu um método para identificar os bichos-da-seda que estavam contaminados.

Em 1860, Joseph Lister, um cirurgião inglês, aplicou a teoria do germe nos procedimentos médicos. Lister estava ciente de que, em 1840, o médico húngaro Ignaz Semmelweis tinha demonstrado que os médicos, que naquela época não faziam assepsia das mãos, transmitiam infecções rotineiramente (febre em crianças recém-nascidas) de uma paciente de obstetrícia para outra. Lister também tinha conhecimento do trabalho de Pasteur conectando os micróbios com as doenças em animais. Desinfetantes não eram usados naquela época, mas Lister sabia que o fenol (ácido carbólico) matava as bactérias, então começou a tratar as feridas cirúrgicas com uma solução de fenol. A prática para reduzir a incidência de infecções e morte foi adotada rapidamente por outros cirurgiões. A técnica de Lister foi uma das tentativas médicas mais antigas para controlar infecções causadas por micro-organismos. Na realidade, suas descobertas provaram que os micro-organismos provocam infecções nas feridas cirúrgicas.

A primeira prova de que as bactérias realmente causam doenças foi fornecida por Robert Koch em 1876. Koch, um médico alemão, era o jovem rival de Pasteur na corrida para descobrir a causa do antraz, uma doença que estava destruindo os rebanhos de gado e ovelhas na Europa. Koch descobriu uma bactéria em forma de bastonete, atualmente conhecida como *Baccilus anthracis*, no sangue do gado que morrera de antraz. Ele cultivou a bactéria em meio de cultura e então injetou amostras da cultura em animais saudáveis. Quando estes animais ficaram doentes e morreram, Koch isolou a bactéria de amostras de sangue e comparou com a bactéria originalmente isolada. Ele descobriu que as duas amostras continham a mesma bactéria.

Koch estabeleceu, então, uma sequência de passos experimentais para correlacionar diretamente um micróbio específico a uma doença específica. Esses passos são conhecidos como **postulados de Koch** (veja a Figura 14.3, página 405). Durante os últimos 100 anos, esses mesmos critérios têm sido extremamente úteis nas investigações para provar que micro-organismos específicos causam muitas doenças. Os postulados de Koch, suas limitações e suas aplicações nas doenças serão discutidos em mais detalhes no Capítulo 14.

Vacinação

Frequentemente um tratamento ou um procedimento preventivo é desenvolvido antes que os cientistas saibam como funciona. A vacina contra varíola é um exemplo disso. Em 4 de maio de 1976, quase 70 anos antes de Kock estabelecer que um micro-organismo específico causava o antraz, Edward Jenner, um jovem médico inglês, iniciou um experimento para descobrir um modo de proteger as pessoas da varíola.

As epidemias de varíola eram muito temidas. A doença aparecia periodicamente por toda a Europa, matando milhares de pessoas, e dizimou 90% dos nativos na Costa Oeste norte-americana quando os colonizadores europeus levaram a infecção para o Novo Mundo.

Quando uma jovem que trabalhava na ordenha de vacas informou a Jenner que ela não contrairia varíola porque já tinha estado doente de varíola bovina* – uma doença mais branda que a varíola – ele decidiu testar a história da garota. Jenner coletou primeiro raspados das feridas de varíola bovina. Então, ele inoculou um voluntário de 8 anos de idade com o material retirado das feridas por meio de pequenos arranhões no braço do garoto com uma agulha contaminada. Os arranhões deram origem a bolhas. Em poucos dias, o voluntário estava com uma forma amena da doença, mas se recuperou e nunca mais contraiu nem a varíola bovina e nem a varíola humana. O processo foi chamado de *vacinação*, da palavra latina *vacca*, que significa gado. Pasteur deu esse nome em homenagem ao trabalho de Jenner. A proteção contra uma doença, fornecida pela vacinação (ou pela recuperação da própria doença), é chamada de **imunidade**. Discutiremos os mecanismos de imunidade no Capítulo 17.

Anos após os experimentos de Jenner, em aproximadamente 1880, Pasteur descobriu como funcionava a vacinação. Ele descobriu que a bactéria que causava a cólera nas aves domésticas perdia a capacidade de causar a doença (perdia a *virulência* ou tornava-se *avirulenta*) após ser mantida em condições de laboratório por longos períodos. Contudo, esta bactéria e outros micro-organismos com virulência diminuída eram capazes de induzir imunidade contra infecções subsequentes por seus companheiros virulentos. A descoberta desse fenômeno forneceu a chave para o sucesso do experimento de Jenner com varíola bovina. Tanto a varíola humana quanto a bovina são causadas por vírus. Mesmo que o *Cowpox virus* não seja um derivado produzido em laboratório do vírus causador da varíola, sua semelhança com o vírus da varíola é tão grande que ele pode induzir imunidade contra ambas as viroses. Pasteur utilizou o termo *vacina* para as culturas de micro-organismos avirulentos, usadas na inoculação preventiva.

O experimento de Jenner foi o primeiro na cultura ocidental que utilizou um agente viral vivo – o *Cowpox virus* – para produzir imunidade. Médicos chineses imunizavam seus pacientes pela remoção das crostas de pústulas ressecadas de pessoas sofrendo casos amenos de varíola, transformavam essas cascas em um pó fino e inseriam o pó nas narinas das pessoas para que fossem protegidas.

Algumas vacinas ainda são produzidas a partir de linhagens de micro-organismos avirulentos que estimulam a imunidade contra uma linhagem virulenta relacionada. Outras vacinas são feitas a partir de micro-organismos virulentos mortos ou por técnicas de engenharia genética.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✔ Resuma com suas próprias palavras a teoria do germe da doença. **1-8**
- ✔ Qual é a importância dos postulados de Koch? **1-9**
- ✔ Qual é o significado da descoberta de Jenner? **1-10**

* N. de R.T. A varíola bovina é causada pelo *Cowpox virus*.

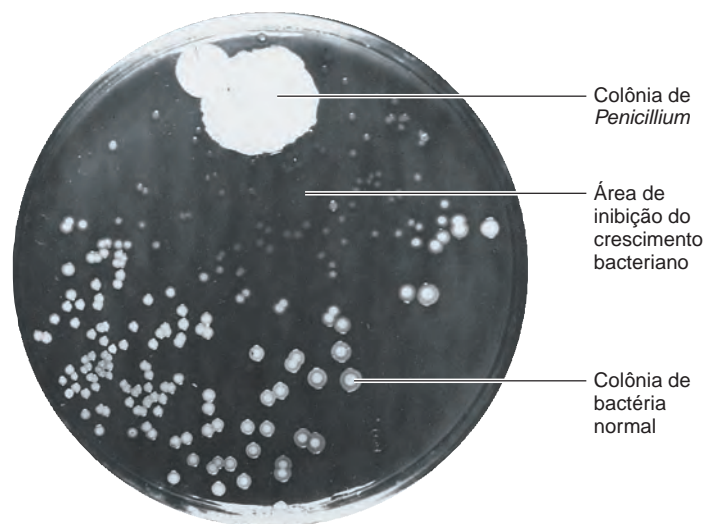



Figura 1.5 **A descoberta da penicilina.** Alexander Fleming tirou esta fotografia em 1928. A colônia do fungo *Penicillium* acidentalmente contaminou a placa e inibiu o crescimento das bactérias adjacentes.

P **Quais são alguns dos problemas associados com os antibióticos?**

O nascimento da quimioterapia moderna: sonhos de uma "bala mágica"

Após a relação entre micro-organismos e doenças ter sido estabelecida, os médicos microbiologistas direcionaram as novas pesquisas para a busca de substâncias que pudessem destruir o micro-organismo patogênico sem causar nenhum mal à pessoa ou ao animal infectado. O tratamento das doenças utilizando substâncias químicas é chamado de **quimioterapia**. (O termo se refere também ao tratamento químico de doenças não infecciosas, como o câncer.) Os químicos produzidos naturalmente por bactérias e fungos que agem contra outros micro-organismos são chamados de **antibióticos**. Os agentes quimioterápicos preparados a partir de compostos químicos em laboratório são chamados de **drogas sintéticas**. O sucesso da quimioterapia é baseado no fato de que alguns compostos químicos são mais nocivos aos micro-organismos do que ao hospedeiro infectado. A terapia antimicrobiana será discutida posteriormente em detalhes no Capítulo 20.

As primeiras drogas sintéticas

Paul Ehrlich, um médico alemão, foi um pensador criativo que disparou o primeiro tiro na revolução da quimioterapia. Como estudante de medicina, Ehrlich especulou sobre uma "bala mágica" que pudesse combater e destruir o patógeno sem prejudicar o hospedeiro. Ehrlich lançou-se em busca dessa bala. Em 1910, após testar centenas de substâncias, ele descobriu um agente quimioterápico chamado de *salvarsan*, um derivado de arsênico, efetivo contra a sífilis. O agente foi chamado de salvarsan por ter sido considerado a salvação contra a sífilis e conter arsênio. Antes dessa descoberta, o único químico conhecido no arsenal médico europeu era um extrato retirado da casca de uma arvore sul-americana, *quinino*, que tinha sido usado pelos conquistadores espanhóis no tratamento da malária.

No final da década de 1930, os pesquisadores desenvolveram outras drogas sintéticas que podiam destruir micro-organismos. A maioria dessas drogas era derivada de corantes. Isso aconteceu porque os corantes, sintetizados e produzidos para tecidos, eram rotineiramente testados em relação à atividade antimicrobiana pelos microbiologistas, que procuravam a "bala mágica". Além disso, as *sulfonamidas* (drogas derivadas da sulfa) foram sintetizadas no mesmo período.

Um acidente afortunado: os antibióticos

Em contraste às drogas derivadas da sulfa, que foram desenvolvidas deliberadamente de uma série de compostos químicos industriais, o primeiro antibiótico foi descoberto por acidente. Alexander Fleming, um médico e bacteriologista escocês, quase descartou algumas placas que tinham sido contaminadas por fungos. Felizmente, ele resolveu observar novamente o curioso padrão de crescimento sobre as placas contaminadas. Ao redor dos fungos existia uma área clara onde o crescimento bacteriano tinha sido inibido (**Figura 1.5**). Fleming estava observando um fungo que podia inibir o crescimento de uma bactéria. O fungo foi depois identificado com *Penicillium notatum*, sendo mais tarde chamado de *Penicillium chrysogenum*. Em 1928, Fleming chamou o inibidor produzido pelo fungo de *penicilina*. Assim, a penicilina é um antibiótico produzido por um fungo. A enorme utilidade da penicilina não foi notada até a década de 1940, quando foi testada clinicamente e produzida em grande escala.

Desde as descobertas iniciais dos antibióticos, milhares de outros foram desenvolvidos. Infelizmente, os antibióticos e outras drogas quimioterápicas não estão livres de problemas. Muitos compostos químicos antimicrobianos são tão tóxicos para os humanos que não têm uso prático; eles matam os micro-organismos patogênicos, mas também prejudicam o hospedeiro infectado. Por razões que serão discutidas mais tarde, a toxicidade para humanos é um problema específico no desenvolvimento de drogas para o tratamento de doenças virais. O crescimento viral depende dos processos vitais das células hospedeiras normais. Assim, existem poucas drogas antivirais efetivas, pois uma droga que interferiria na reprodução viral também pode afetar as células não infectadas do corpo.

Outro grande problema associado com as drogas antimicrobianas é o aparecimento e a dispersão de novas linhagens de micro-organismos que são resistentes aos antibióticos. Com o passar dos anos, cada vez mais micróbios têm desenvolvido resistência a antibióticos que antes eram efetivos contra esses micro-organismos. A resistência às drogas resulta de mudanças genéticas nos micróbios tornando-os capazes de tolerar uma certa quantidade de um antibiótico, que normalmente inibiria o seu crescimento (veja o quadro no Capítulo 26, página 751). Essas mudanças podem incluir a produção de enzimas microbianas que inativam os antibióticos, mudanças na superfície de um micróbio que impedem a ligação do antibiótico, ou o impedimento do antibiótico de alcançar o interior da célula microbiana.

O aparecimento recente de linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* resistentes à vancomicina tem alarmado os profissionais de saúde, porque isso indica que algumas infecções previamente tratáveis podem em breve não responder mais ao tratamento com antibióticos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O que era a "bala mágica" pensada por Ehrlich? **1-11**

Progressos recentes na microbiologia

A questão da solução da resistência a drogas, a identificação de viroses e o desenvolvimento de vacinas requerem técnicas de pesquisas sofisticadas e estudos correlacionados que nunca foram imaginados no dias de Koch e Pasteur.

O trabalho de base, feito durante a Idade de Ouro da Microbiologia, forneceu as bases para várias descobertas monumentais do século XX (**Tabela 1.2**). Novos ramos da microbiologia foram desenvolvidos, incluindo a imunologia e a virologia. Mais recentemente, o desenvolvimento de uma série de novos métodos, chamados de tecnologia do DNA recombinante, revolucionou as pesquisas e as aplicações práticas em todas as áreas da microbiologia.

Bacteriologia, micologia e parasitologia

A **bacteriologia**, o estudo das bactérias, começou com as primeiras observações dos raspados de dentes de van Leeuwenhoek. Novas bactérias patogênicas ainda são descobertas regularmente. Muitos bacteriologistas, como o seu predecessor Pasteur, pesquisam os papéis das bactérias em alimentos e no ambiente. Uma descoberta intrigante ocorreu em 1997, quando Heide Schulz descobriu uma bactéria grande o bastante para ser vista a olho nu (0,2 mm de largura). Essa bactéria, que foi chamada de *Thiomargarita namibiensis*, vive nos lodos na Costa Africana. A *Thiomargarita* é diferente devido ao seu tamanho e nicho ecológico. A bactéria consome ácido sulfito de hidrogênio, que seria tóxico aos animais que habitam o lodo (Figura 11.28, página 326).

A **micologia**, que estuda os fungos, inclui os ramos da medicina, agricultura e ecologia. Lembre-se de que os trabalhos de Bassi, que levaram ao surgimento da teoria do germe da doença, foram feitos com um fungo patogênico. As taxas de infecções fúngicas aumentaram durante a última década, representando 10% das infecções adquiridas em hospitais. As mudanças climáticas e ambientais (estiagens severas) podem ter sido responsáveis por um aumento de cerca de 10 vezes nas infecções por *Coccidioides immitis* na Califórnia. Novas técnicas para o diagnóstico e o tratamento das infecções fúngicas estão sendo investigadas.

A **parasitologia** é o estudo de protozoários e vermes parasitas. Devido ao fato de muitos vermes parasitas serem grandes o bastante para serem vistos a olho nu, esses organismos são conhecidos há milhares de anos. Uma hipótese é que o símbolo da medicina, o *caduceus*, represente a remoção de vermes parasitas da Guiné (**Figura 1.6a**).

A derrubada de florestas tropicais tem exposto os trabalhadores a parasitas previamente desconhecidos. Além disso, doenças parasitárias desconhecidas estão sendo descritas em pacientes com o sistema imune debilitado por transplante de órgãos, quimioterapia para o tratamento de câncer e Aids.

A bacteriologia, a micologia e a parasitologia estão passando atualmente pela "era de ouro da classificação". Os avanços recentes em **genômica**, o estudo de todos os genes de um organismo, têm permitido aos cientistas classificar bactérias, fungos e protozoários. Anteriormente esses micro-organismos eram classificados de acordo com um número limitado de características visíveis.

(a) O *caduceus*, o símbolo da profissão médica, pode ter sido desenhado após o procedimento para a remoção de vermes da Guiné parasitários.

(b) Um médico remove um verme da Guiné (*Dracunculus medinensis*) do tecido subcutâneo de um paciente enrolando-o com um palito.

Figura 1.6 **Parasitologia: o estudo de protozoários e vermes parasitas.**

P **Quais são as diferenças entre a bacteriologia, a micologia e a parasitologia?**

Imunologia

A **imunologia**, o estudo da imunidade, tem seu início correlacionado, na cultura ocidental, com a primeira vacina desenvolvida por Jenner, em 1796. Desde então, o conhecimento sobre o sistema imune tem sido acumulado sem parar e expandido rapidamente durante o século XX. Estão disponíveis vacinas para diversas doenças, incluindo sarampo, rubéola (sarampo alemão), caxumba, catapora, pneumonia pneumocócica, tétano, tuberculose, gripe, coqueluche, poliomielite e hepatite B. A vacina contra a varíola foi tão eficiente que a doença foi eliminada. Os órgãos oficiais de saúde pública estimam que a pólio será erradicada dentro de poucos anos pelo uso da vacina contra a poliomielite. Em 1960, os interferons, substâncias geradas pelo sistema imune do próprio corpo, foram descobertos. Os interferons inibem a replicação viral e têm desencadeado um número considerável de pesquisas relacionadas com o tratamento das doenças virais e do câncer. Atualmente, um dos maiores desafios para os imunologistas é descobrir como o sistema imune pode ser estimulado para repelir o vírus responsável pela Aids, a doença que destrói o sistema imune.

Tabela 1.2 Ganhadores de Prêmios Nobel pela pesquisa em microbiologia

Laureados com o Nobel	Ano de apresentação	País de nascimento	Contribuição
Emil A. Von Behring	1901	Alemanha	Desenvolveu uma antitoxina diftérica
Ronald Ross	1902	Inglaterra	Descobriu como a malária é transmitida
Robert Koch	1905	Alemanha	Cultivou a bactéria da tuberculose
Paul Ehrlich	1908	Alemanha	Desenvolveu teorias sobre a imunidade
Elie Metchnikoff	1908	Rússia	Descreveu a fagocitose (ingestão de materiais sólidos pelas células)
Alexander Fleming, Ernst Chain e Howard Florey	1945	Escócia, Inglaterra e Inglaterra	Descobriram a penicilina
Selman A. Waksman	1952	Ucrânia	Descobriu a estreptomicina
Hans A. Krebs	1953	Alemanha	Descobriu os passos químicos do ciclo de Krebs no metabolismo de carboidratos
John F. Enders, Thomas H. Weller e Frederick C. Robbins	1954	Estados Unidos	Cultivaram o poliovírus em cultura de células
Joshua Lederberg, George Beadle e Edward Tatum	1958	Estados Unidos	Descreveram o controle genético das reações bioquímicas
Frank Macfarlane Burnet e Peter Brian Medawar	1960	Austrália e Grã-Bretanha	Descobriram a tolerância imune adquirida
James D. Watson, Frances H. C. Crick e Maurice A. F. Wilkins	1962	Estados Unidos, Inglaterra e Nova Zelândia	Identificaram a estrutura física do DNA
François Jacob, Jacques Monod e André Lwoff	1965	França	Descobriram como a síntese proteica é regulada em bactérias
Peyton Rous	1966	Estados Unidos	Descobriu os vírus causadores de câncer
Max Delbrück, Alfred D. Hershey e Salvador E. Luria	1969	Alemanha, Estados Unidos e Itália	Descobriram o mecanismo da infecção viral em bactérias
Gerald M. Edelman e Rodney R. Porter	1972	Estados Unidos e Inglaterra	Descobriram a natureza e a estrutura dos anticorpos
Renato Dulbecco, Howard Temin e David Baltimore	1975	Estados Unidos	Descobriram a transcriptase reversa e como os vírus RNA podem causar câncer
Daniel Nathans, Hamilton Smith e Werner Arber	1978	Estados Unidos, Estados Unidos e Suíça	Descobriram a ação das enzimas de restrição (atualmente utilizadas na tecnologia do DNA recombinante)
Peter Mitchell	1978	Inglaterra	Descreveu os mecanismos quimiosmóticos para a síntese de ATP
Paul Berg	1980	Estados Unidos	Realizou experimentos no processamento de genes

(*continua*)

Tabela 1.2 *(continuação)*

Laureados com o Nobel	Ano de apresentação	País de nascimento	Contribuição
Aaron Klug	1982	África do Sul	Descreveu a estrutura do vírus do mosaico do tabaco (TMV)
Barbara McClintock	1983	Estados Unidos	Descobriu os transposons (pequenos segmentos de DNA que podem se mover de uma região de uma molécula de DNA para outra)
César Milstein, Georges J. F. Köhler e Niels Kai Jerne	1984	Argentina, Alemanha e Dinamarca	Desenvolveram a técnica para a produção de anticorpos monoclonais (anticorpos puros e únicos)
Susumu Tonegawa	1987	Japão	Descreveu a genética da produção de anticorpos
Johann Deisenhofer, Robert Huber e Hartmut Michel	1988	Alemanha	Descreveram a estrutura dos pigmentos fotossintéticos bacterianos
J. Michael Bishop e Harold E. Varmus	1989	Estados Unidos	Descreveram os genes causadores de câncer chamados de oncogenes
Joseph E. Murray e E. Donnall Thomas	1990	Estados Unidos	Realizaram os primeiros transplantes de órgão bem-sucedidos utilizando agentes imunossupressivos
Edmond H. Fisher e Edwin G. Krebs	1992	Estados Unidos	Descobriram as proteína-cinases, enzimas que regulam o crescimento celular
Richard J. Roberts e Philip A. Sharp	1993	Grã-Bretanha e Estados Unidos	Descobriram que um gene pode estar separado em diferentes segmentos de DNA
Kary B. Mullis	1993	Estados Unidos	Descobriu a reação em cadeia da polimerase para amplificar o DNA (fazer múltiplas cópias)
Peter C. Doherty e Rolf M. Zinkernagel	1996	Austrália e Suíça	Descobriram como as células T citotóxicas reconhecem as células infectadas por vírus para destruí-las
Stanley B. Prusiner	1997	Estados Unidos	Descobriu e deu nome às partículas proteicas infecciosas (prions) e demonstrou uma relação entre prions e as doenças neurológicas mortais em humanos e animais
Peter Agre e Roderick MacKirron	2003	Estados Unidos	Descobriram os canais iônicos e de água nas membranas celulares
Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose	2004	Israel, Israel e Estados Unidos	Descobriram como as células descartam proteínas indesejáveis nos proteossomas
Barry Marshall e J. Robin Warren	2005	Austrália	Descobriram que o *Helicobacter pylori* provoca as úlceras pépticas
Andrew Fire e Craig Mello	2006	Estados Unidos	Descobriram o RNA de interferência (RNAi), ou silenciamento gênico, por RNAs de fita dupla
Harald Zur Hausen	2008	Alemanha	Descobriu que o papilomavírus humano causa o câncer cervical
Françoise Barré-Sinoussi e Luc Montagnier	2008	França	Descobriram o vírus da imunodeficiência humana (HIV)

O maior avanço na imunologia ocorreu em 1933, quando Rebecca Lancefield propôs que os estreptococos poderiam ser classificados de acordo com os sorotipos (variantes dentro de uma espécie), com base em certos componentes das paredes celulares das bactérias. Os estreptococos são responsáveis por uma variedade de doenças, como dor de garganta, síndrome do choque tóxico estreptocócico e septicemia. A pesquisa de Lancefield permitiu a rápida identificação de estreptococos patogênicos específicos com base em técnicas imunológicas.

Virologia

O estudo dos vírus, a **virologia**, na verdade surgiu na Época de Ouro da Microbiologia. Em 1892, Dmitri Iwanowski relatou que o organismo que causava a doença do mosaico no tabaco era tão pequeno que podia passar através de filtros finos o bastante para reter todas as bactérias conhecidas. Naquela época, Iwanowski não sabia que o organismo em questão era um vírus no sentido que atualmente compreendemos o termo. Em 1935, Wendell Stanley mostrou que o organismo, chamado de vírus do mosaico do tabaco (TMV, de *Tobacco mosaic virus*), era fundamentalmente diferente dos outros micróbios e tão simples e homogêneo que poderia ser cristalizado como um composto químico. O trabalho de Stanley facilitou o estudo da estrutura e da química viral. A partir do desenvolvimento do microscópio eletrônico na década de 1940, os microbiologistas podem observar a estrutura dos vírus em detalhes, e atualmente muito mais é conhecido sobre a atividade e a estrutura desses organismos.

Tecnologia do DNA recombinante

Os micro-organismos podem agora ser modificados geneticamente para a fabricação de uma grande quantidade de hormônios humanos e outras substâncias médicas que são extremamente necessárias. No final da década de 1960, Paul Berg mostrou que fragmentos do DNA (genes) humano ou animal que codificam proteínas importantes podem ser ligados ao DNA bacteriano. O híbrido resultante foi o primeiro exemplo de **DNA recombinante**. Quando o DNA recombinante é inserido dentro das bactérias (e outros micro-organismos), pode ser utilizado para produzir uma grande quantidade de proteínas desejadas. A tecnologia desenvolvida a partir dessa técnica é chamada de **tecnologia do DNA recombinante**, sendo que sua origem está em duas áreas relacionadas. A primeira, a **genética microbiana**, estuda os mecanismos pelos quais os micro-organismos herdam suas características. A segunda, a **biologia molecular,** estuda especificamente como a informação genética é transmitida nas moléculas de DNA e como o DNA direciona a síntese de proteínas.

Embora a biologia molecular envolva todos os organismos, muito do nosso conhecimento de como os genes determinam características específicas tem sido revelado por meio de experimentos com bactérias. Até a década de 1930, toda a pesquisa genética tinha como base estudos em células animais e vegetais. Entretanto, na década de 1940, os cientistas voltaram-se para organismos unicelulares, principalmente para as bactérias, as quais apresentavam várias vantagens para as pesquisas genéticas e bioquímicas. Por um lado, as bactérias são muito menos complexas do que as plantas e os animais. Por outro lado, o ciclo de vida de muitas bactérias se competa em menos de uma hora, portanto os cientistas podem cultivar um grande número de indivíduos para estudo em um tempo relativamente curto.

A partir do momento em que os cientistas se voltaram para o estudo da vida unicelular, os progressos em genética começaram a ocorrer rapidamente. Em 1941, George W. Beadle e Edward L. Tatum demonstraram a relação entre genes e enzimas. O DNA foi estabelecido como o material de hereditariedade por Oswald Avery, Colin MacLeod e Maclyn McCarty, em 1944. Em 1946, Joshua Lederberg e Edward L. Tatum descobriram que o material genético podia ser transferido de uma bactéria para outra por meio de um processo chamado de conjugação. Em 1953, James Watson e Francis Crick propuseram um modelo para a estrutura e a replicação do DNA. O início da década de 1960 testemunhou uma verdadeira explosão de descobertas relacionadas com o modo pelo qual o DNA controla a síntese proteica. Em 1961, François Jacob e Jacques Monod descobriram o RNA (ácido ribonucleico) mensageiro, envolvido na síntese de proteínas, e mais tarde fizeram as principais descobertas sobre a regulação da função dos genes em bactérias. Durante o mesmo período, os cientistas desvendaram o código genético, podendo assim compreender como a informação para a síntese proteica no RNA mensageiro era traduzida nas sequências de aminoácidos para produzir as proteínas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Defina *bacteriologia*, *micologia*, *parasitologia*, *imunologia* e *virologia*. **1-12**

✓ Diferencie a genética microbiana da biologia molecular. **1-13**

Os micróbios e o bem-estar humano

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

1-14 Listar pelo menos quatro atividades benéficas dos micro-organismos.

1-15 Citar dois processos em biotecnologia que utilizam e dois que não utilizam a tecnologia do DNA recombinante.

Como mencionado anteriormente, apenas uma minoria dos micro-organismos é patogênica. Os micróbios que causam deterioração de alimentos, como partes amolecidas em frutos e vegetais, decomposição de carnes e ranço de gorduras e óleos, também são uma minoria. A grande maioria dos micro-organismos é benéfica ao homem, a outros animais e também às plantas de muitas maneiras diferentes. As seções seguintes mostrarão algumas dessas atividades benéficas. Nos capítulos finais, discutiremos essas características em mais detalhes.

Reciclagem de elementos vitais

As descobertas feitas por dois microbiologistas, na década de 1880, formaram a base para o conhecimento atual dos ciclos biogeoquímicos que garantem a vida na Terra. Martinus Beijerinck e Sergei Winogradsky foram os primeiros a demonstrar como as bactérias ajudam a reciclar os elementos vitais do solo e da atmosfera.

A **ecologia microbiana,** o estudo da relação entre os micro--organismos e o ambiente, surgiu com o trabalho de Beijerinck e Winogradsky. Atualmente, a ecologia microbiana apresenta vários ramos, incluindo os estudos de como as populações microbianas interagem com plantas e animais nos diferentes ambientes. Entre as preocupações dos ecologistas microbianos estão a poluição das águas e a presença dos compostos tóxicos no ambiente.

Os elementos químicos carbono, nitrogênio, oxigênio, enxofre e fósforo são essenciais para a manutenção da vida e abundantes, mas não necessariamente nas formas que possam ser utilizados pelos organismos. Os micro-organismos são os principais responsáveis pela conversão desses elementos em formas que podem ser utilizadas por plantas e animais. Os micro-organismos, principalmente as bactérias e os fungos, têm um papel essencial no retorno do dióxido de carbono para a atmosfera quando decompõem resíduos orgânicos, plantas e animais mortos. Algas, cianobactérias e plantas superiores utilizam o dióxido de carbono durante a fotossíntese para produzir carboidratos para animais, fungos e bactérias. O nitrogênio é abundante na atmosfera, mas em uma forma que não é utilizável por plantas e animais. Somente as bactérias podem converter naturalmente o nitrogênio atmosférico em formas disponíveis para plantas e animais.

Tratamento de esgotos: utilizando os micróbios para reciclar a água

Com a crescente conscientização da sociedade sobre a necessidade de preservar o ambiente, muito mais pessoas estão conscientes da responsabilidade de reciclar a tão preciosa água e prevenir a poluição de rios e oceanos. Uma das maiores fontes de poluição é o esgoto doméstico, que consiste em excrementos humanos, água suja, lixos industriais e águas fluviais. O esgoto é constituído por cerca de 99,9% de água, com uma pequena fração de 0,01% de sólidos em suspensão. O restante é uma variedade de materiais dissolvidos.

As estações de tratamento de esgoto removem os materiais indesejáveis e os micro-organismos nocivos. Os tratamentos combinam vários processos físicos com a ação de micróbios benéficos. Os sólidos maiores, como papel, madeira, vidro, cascalho e plástico, são removidos do esgoto; o restante é composto de líquidos e materiais orgânicos que as bactérias convertem em produtos secundários, como dióxido de carbono, nitratos, fosfatos, sulfatos, amônia, sulfito de hidrogênio e metano. (O tratamento de esgoto será discutido em mais detalhes no Capítulo 27.)

Biorremediação: utilizando micróbios para limpar poluentes

Em 1988, os cientistas começaram a utilizar mocróbios para limpar poluentes e resíduos tóxicos produzidos por vários processos industriais. Por exemplo, algumas bactérias podem, na verdade, utilizar poluentes como fontes de energia; outras podem produzir enzimas que quebram as toxinas em substâncias menos nocivas. Ao utilizar as bactérias dessa maneira – um processo conhecido como **biorremediação** – toxinas podem ser removidas de poços subterrâneos, derramamentos químicos, locais com esgoto tóxico e derramamentos de óleos, como o desastre da empresa *Exxon Valdez* em 1989 (veja o quadro no Capítulo 2, página 33). Além disso, as enzimas bacterianas são usadas no desentupimento de bueiros, sem a necessidade de adicionar químicos nocivos ao ambiente. Em alguns casos, são utilizados micro-organismos nativos ao ambiente; em outros, são aplicados micróbios modificados geneticamente. Entre os micro-organismos mais comumente utilizados estão certas espécies de bactérias do gênero *Pseudomonas* e *Bacillus*. As enzimas de *Bacillus* são usadas em detergentes domésticos para a remoção de manchas de gordura das roupas.

Controle de pragas de insetos por micro-organismos

Além de espalhar doenças, os insetos podem devastar plantações. O controle de pragas é, portanto, importante para a agricultura e na prevenção de doenças humanas.

A bactéria *Bacillus thuringiensis* tem sido extensivamente utilizada nos Estados Unidos para controlar pestes como a lagarta da alfafa, a broca do milho, as lagartas do milho, os vermes do repolho, as pragas do tabaco e as lagartas comedoras de folhas de plantas frutíferas. A bactéria é pulverizada sobre as plantações atacadas por esses insetos. Ela produz cristais proteicos que são tóxicos para o sistema digestório dos insetos. O gene da toxina tem sido inserido em algumas plantas para torná-las resistentes aos insetos.

Pelo uso de controles microbianos em vez de produtos químicos, os fazendeiros podem evitar prejuízos ao ambiente. Muitos inseticidas químicos, com o DDT, permanecem no solo como poluentes tóxicos e acabam sendo incorporados na cadeia alimentar.

Biotecnologia moderna e tecnologia do DNA recombinante

Anteriormente, comentamos sobre o uso comercial de micro-organismos na produção de alguns alimentos comuns e compostos químicos. Tal aplicação prática da microbiologia é chamada de **biotecnologia**. Embora a biotecnologia tenha sido utilizada de diferentes maneiras por séculos, as técnicas se tornaram mais sofisticadas nas últimas décadas. Há alguns anos, a biotecnologia passou por uma revolução com o advento da tecnologia do DNA recombinante, expandindo o potencial de bactérias, vírus, células de leveduras e outros fungos para serem utilizados como fábricas bioquímicas em miniatura. Culturas de células animais e vegetais, assim como animais e plantas intactos, são utilizados como organismos e células recombinantes.

As aplicações da engenharia genética estão aumentando a cada ano. As técnicas de DNA recombinante têm sido utilizadas para produzir um grande número de proteínas naturais, vacinas e enzimas. Tais substâncias têm grande potencial para uso em medicina; algumas delas são descritas na Tabela 9.1, na página 249.

Um resultado muito importante e excitante das técnicas de DNA recombinante é a **terapia gênica** – a inserção de um gene ausente ou a substituição de um gene defeituoso em células humanas. Essa técnica utiliza um vírus inofensivo para transportar um gene ausente ou um novo gene para o interior de certas células hospedeiras, local onde o gene é inserido no cromossomo apropriado. Desde 1990, a

terapia gênica tem sido usada para tratar pacientes com deficiência de adenosina desaminase (ADA), uma das causas da doença conhecida como imunodeficiência associada grave (SCID, de *severe combined immunodeficiency disease*), em que as células do sistema imune são inativadas ou perdidas; a distrofia muscular de Duchenne, uma doença que destrói os músculos; a fibrose cística, uma doença das porções secretoras das vias respiratórias, do pâncreas, das glândulas salivares e das glândulas sudoríparas; e a deficiência do receptor LDL, uma condição em que os receptores da lipoproteína de baixa densidade (LDL, de *low-density lipoprotein*) estão defeituosos, não permitindo a entrada de LDL nas células. A LDL permanece no sangue em altas concentrações e aumenta o risco de aterosclerose e doenças coronárias, pois leva à formação de placas de gordura nos vasos sanguíneos. Os resultados da terapia gênica ainda estão sendo avaliados. Outras doenças genéticas também poderão ser tratadas pela terapia gênica no futuro, incluindo a hemofilia, incapacidade do sangue de coagular normalmente; o diabete, representado por elevados níveis de açúcar no sangue; a anemia falciforme, um tipo anormal de hemoglobina; e um tipo de hipercolesterolemia, que é a presença de altos níveis de colesterol no sangue.

Além das aplicações médicas, as técnicas de DNA recombinante também são utilizadas na agricultura. Por exemplo, linhagens de bactérias alteradas geneticamente têm sido desenvolvidas para proteger frutos contra os danos de geadas, e bactérias modificadas para controlar insetos que causam danos às plantações. O DNA recombinante também tem sido usado para melhorar a aparência, o sabor e para aumentar a durabilidade de frutos e vegetais nas prateleiras. Potenciais utilizações da tecnologia do DNA recombinante na agricultura incluem resistência à seca, ao ataque de insetos, a doenças microbianas e aumento da tolerância a altas temperaturas de plantas cultivadas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Cite dois usos benéficos das bactérias. **1-14**
- ✓ Diferencie biotecnologia de tecnologia do DNA recombinante. **1-15**

Os micróbios e as doenças humanas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **1-16** Definir *microbiota normal* e *resistência*.
- **1-17** Definir *biofilme*.
- **1-18** Definir *doenças infecciosas emergentes*.

Microbiota normal

Todos vivemos do nascimento até a morte em um mundo cheio de micróbios, e todos temos uma variedade de micro-organismos dentro do nosso corpo. Esses micro-organismos fazem parte da nossa **microbiota normal** ou *flora** (**Figura 1.7**). A microbiota normal não nos faz nenhum mal, podendo ser em alguns casos ser benéfica. Por exemplo, algumas microbiotas normais nos protegem contra as doenças por prevenirem o crescimento de micro-organismos nocivos, e outras produzem substâncias úteis como vitamina K e algumas vitaminas do complexo B. Infelizmente, sob certas circunstâncias, a microbiota normal pode nos fazer adoecer ou infectar pessoas com quem temos contato. Por exemplo, quando certa microbiota normal sai do seu nicho, ela pode causar doença.

Figura 1.7 Diferentes tipos de bactérias descobertos como parte da microbiota normal sobre a superfície da língua humana.

P Quais são os benefícios da microbiota normal?

Quando um micróbio é bem-vindo para a saúde humana e quando ele é um vetor de doenças? A distinção entre ter saúde e doença é em grande parte um equilíbrio entre as defesas naturais do corpo e as propriedades dos micro-organismos de produzir doenças. Se nosso corpo irá ou não reagir às táticas ofensivas depende da nossa **resistência** – a habilidade de evitar doenças. Importantes resistências naturais são fornecidas pela barreira da pele, das membranas mucosas, dos cílios, do ácido estomacal e dos compostos antimicrobianos, como os interferons. Os micróbios podem ser destruídos pelos glóbulos brancos do sangue, pela resposta inflamatória, pela febre e pelas respostas específicas do nosso sistema imune. Algumas vezes, quando nossas defesas naturais não são fortes o bastante para reagir a um invasor, elas podem ser suplementadas com antibióticos e outras drogas.

Biofilmes

Na natureza, os micro-organismos podem existir como células separadas que flutuam ou nadam independentemente em um líquido, ou estar atados uns aos outros e/ou a uma superfície em geral sólida. Esse último comportamento é chamado de **biofilme**, uma agregação complexa de micro-organismos. O lodo cobrindo uma rocha em um lago é um biofilme. Você pode usar sua língua para sentir o biofilme sobre seus dentes. Os biofilmes podem ser benéficos. Eles são capazes de proteger as membranas mucosas de micro-organismos nocivos, e os biofilmes em lagos são um alimento importante para os animais aquáticos. Contudo, eles também podem ser nocivos. Os biofilmes podem entupir os canos de água e, quando crescem sobre implantes médicos como as próteses e os cateteres (**Figura 1.8**), têm capacidade de causar infecções como as endocardites (inflamação do coração). As bactérias nos biofilmes

* Houve uma época em que as bactérias e os fungos eram considerados plantas e, portanto, o termo *flora* era utilizado.

frequentemente são resistentes aos antibióticos, pois os biofilmes oferecem uma barreira protetora contra a ação antibiótica. Veja o quadro no Capítulo 3 na página 57. Biofilmes serão discutidos no Capítulo 6.

Doenças infecciosas

Uma **doença infecciosa** é aquela em que patógenos invadem um hospedeiro suscetível, como um homem ou um animal. Nesse processo, o patógeno efetua pelo menos uma parte do seu ciclo de vida dentro do hospedeiro, o que com frequência resulta em uma doença. No final da Segunda Guerra Mundial, muitas pessoas acreditavam que as doenças infecciosas estavam sob controle. Elas pensavam que a malária havia sido erradicada pelo uso do inseticida DDT para matar os mosquitos transmissores, que uma vacina preveniria a difteria, e que as melhorias nas medidas sanitárias ajudariam a impedir a transmissão da cólera. A malária ainda está longe de ser eliminada. Desde 1986, surtos locais têm sido identificados em Nova Jersey, Califórnia, Flórida, Nova York e Texas, e a doença infecta 300 milhões de pessoas no mundo inteiro. Em 1994, a difteria apareceu nos Estados Unidos por meio de viajantes vindos dos novos países independentes que formavam a União Soviética, que tinham experimentado intensas epidemias de difteria. A epidemia foi controlada em 1998. Os surtos de cólera ainda ocorrem em países menos desenvolvidos do mundo.

Doenças infecciosas emergentes

Essas recentes epidemias apontam para o fato de que as doenças infecciosas não estão desaparecendo, mas parecem estar ressurgindo e aumentando. Além disso, um número de novas doenças – **doenças infecciosas emergentes** (**EIDs**, de *emerging infectious diseases*) – têm surgido nos últimos anos. Essas são doenças novas ou modificações de doenças já existentes e estão aumentando ou possuem potencial para aumentar a incidência em um futuro próximo. Alguns dos fatores que têm contribuído para o desenvolvimento de EIDs são as mudanças evolutivas nos organismos existentes (*Vibrio chlolerae* O139); a disseminação de doenças conhecidas para novas regiões geográficas ou populações por transportes modernos (vírus da encefalite do Oeste do Nilo); o aumento da exposição humana a agentes infecciosos novos e incomuns em áreas que estão sofrendo mudanças ecológicas com desmatamento e construções (p. ex., vírus hemorrágico venezuelano). As EIDs também desenvolvem-se como um resultado do aumento dos níveis de resistência a antimicrobianos (*S. aureus* resistentes à vancomicina). O aumento do número de ocorrências nos últimos anos ressalta a extensão do problema.

O vírus **influenza A aviária (H5N1)**, ou **gripe aviária**, chamou a atenção pública em 2003, quando matou milhões de aves de corte e 24 pessoas em oito países do Sudeste da Ásia. Os vírus da influenza aviária ocorrem em pássaros no mundo inteiro. Certos pássaros selvagens, particularmente aves aquáticas, não ficam doentes, mas transportam o vírus no intestino além de abrigá-lo na saliva, secreções nas nasais e nas fezes. Com frequência, os pássaros selvagens transmitem o *Influenza virus* para pássaros domésticos, nos quais o vírus causa a morte.

Os vírus influenza A são achados em muitos animais diferentes, incluindo patos, galinhas, porcos, baleias, cavalos e golfinhos. Normalmente, cada subtipo de influenza A é específico para uma determinada espécie. Contudo, o vírus influenza A, em geral encontrado

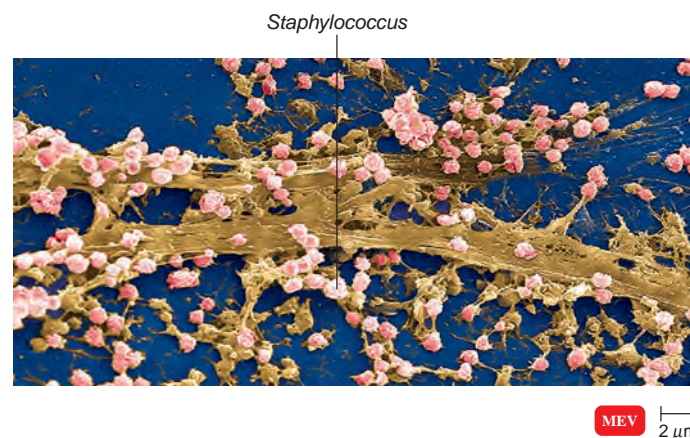



Figura 1.8 Biofilme sobre um cateter. A bactéria *Staphylococcus* liga-se nas superfícies sólidas, formando uma camada limosa. As bactérias liberadas deste biofilme podem causar infecções.

P Por que os antibióticos não matam estas bactérias?

em uma espécie, algumas vezes pode ser transmitido para outra, causando doença, e todos os subtipos de influenza A podem infectar porcos. Embora não seja comum que as pessoas adquiram infecções por influenza diretamente de animais, infecções esporádicas em humanos e surtos causados por certos vírus influenza A e influenza de porcos têm sido relatados. Até 2008, a influenza aviária infectou 242 pessoas, levando metade delas ao óbito. Felizmente, o vírus ainda não evoluiu para ser transmitido com sucesso entre os humanos.

Infecções em seres humanos pelo vírus da influenza aviária, detectadas desde 1997, não têm resultado em transmissão sustentada de humano para humano. Contudo, como os vírus influenza têm o potencial de mudar e ganhar a habilidade de se disseminar facilmente entre as pessoas, o monitoramento das infecções humanas e da transmissão de pessoa para pessoa é importante (veja o quadro no Capítulo 13 na página 370). A agência norte-americana de administração de drogas e alimentos (U.S. Food and Drug Administration – FDA) aprovou uma vacina para humanos contra o vírus da influenza aviária em abril de 2007.

Os antibióticos são fundamentais para o tratamento das infecções bacterianas. Contudo, anos de uso intensivo e o mau uso dessas drogas têm criado ambientes nos quais as bactérias prosperam. Mutações ao acaso em genes bacterianos podem fazer uma bactéria tornar-se resistente a um antibiótico. Na presença de determinado antibiótico, a bactéria tem uma vantagem sobre as outras bactérias suscetíveis, sendo capaz de proliferar. As bactérias resistentes aos antibióticos têm-se tornado uma crise para a saúde global.

O *Staphylococcus aureus* causa uma grande variedade de infecções em humanos, de espinhas e furúnculos a pneumonias, intoxicações alimentares e infecções em feridas cirúrgicas, sendo também uma importante causa de infecções hospitalares. Após o sucesso inicial da penicilina no tratamento das infecções por *S. aureus*, linhagens dessa bactéria resistentes à penicilina tornaram-se a principal ameaça nos hospitais na década de 1950, requerendo o uso de meticilina.

Na década de 1980, ***S. aureus* resistentes à meticilina**, chamados de **MRSAs** (de *methicillin-resistant S. aureus*), surgiram e

tornaram-se endêmicos em muitos hospitais, levando ao aumento do uso da vancomicina. No final da década de 1990, infecções por *S. aureus* menos suscetíveis à vancomicina (***S. aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina**, ou **VISA**, de *vancomycin-intermediate S. aureus*) foram relatadas. Em 2002, foi relatada uma infecção causada por ***S. aureus* resistente à vancomicina** (**VRSA**, de *vancomycin-resistant S. aureus*) em uma paciente nos Estados Unidos.

P&R As substâncias antibacterianas adicionadas em vários produtos de limpeza doméstica são similares aos antibióticos de diversas formas. Quando utilizadas de forma correta, elas inibem o crescimento bacteriano. Contudo, a limpeza de toda superfície doméstica com esses agentes antibacterianos produz um ambiente no qual as bactérias resistentes sobrevivem. Infelizmente, quando você precisa desinfetar a casa e as mãos – por exemplo, quando um membro da família chega em casa vindo de um hospital e ainda está vulnerável a infecções – você encontrará principalmente bactérias resistentes.

A rotina de limpeza doméstica e a lavagem das mãos são necessárias, mas sabão comum e detergentes (sem a adição de antibacterianos) são suficientes para esta finalidade. Além disso, compostos químicos que evaporam rápido, como os alvejantes de cloro, álcool, amônia e peróxido de hidrogênio, removem as bactérias potencialmente patogênicas, mas não deixam resíduos que poderiam selecionar o crescimento de bactérias resistentes.

A **encefalite do Oeste do Nilo** (**WNE**, de *West Nile encephalitis*) é uma inflamação do cérebro causada pelo vírus do Oeste do Nilo. Essa doença foi primeiramente diagnosticada em Uganda, a oeste do Nilo, em 1937. Em 1999, o vírus apareceu pela primeira vez na América do Norte, infectando humanos na cidade de Nova Iorque. Em 2007, ele infectou cerca de 3.600 pessoas em 43 estados americanos. O vírus do Oeste do Nilo está agora estabilizado em aves não migratórias em 47 estados americanos. O vírus, transportado por aves, é transmitido entre pássaros por mosquitos, e da mesma forma para humanos e cavalos. Ele pode ter chegado aos Estados Unidos por meio de um viajante infectado ou por pássaros migratórios.

Em 1996, países do mundo inteiro recusaram-se a importar carne do Reino Unido, quando centenas de milhares de bovinos, nascidos após 1988, foram abatidos devido a uma epidemia de **encefalopatia espongiforme bovina** (**EEB**), ou **doença da vaca louca**. A EEB chamou a atenção dos microbiologistas pela primeira vez em 1986 como sendo uma perigosa doença causada por uma proteína infecciosa, chamada de *prion*. Estudos sugeriram que a fonte da doença teria sido uma ração de gado preparada a partir de ovelhas infectadas com a doença. Os bovinos são herbívoros (se alimentam de plantas), mas a adição de proteína animal em suas rações melhora seu crescimento e sua saúde. A **doença de Creutzfeldt-Jakob** (**CJD**) é uma doença humana também causada por um prion. A incidência de CJD no Reino Unido é similar à incidência em outros países. Contudo, por volta de 2005, foram relatados no Reino Unido 154 casos humanos da doença causada por uma nova variante relacionada com a doença bovina (veja o Capítulo 22).

A *Escherichia coli* é um habitante normal do intestino grosso dos vertebrados, incluindo humanos, e sua presença é benéfica, pois ajuda na produção de certas vitaminas e participa da digestão de alimentos que não seriam digeridos sem a sua presença (veja o Capítulo 25). Contudo, a linhagem chamada de ***E. coli* O157:H7** causa diarreia sanguinolenta quando cresce no intestino. Essa linhagem foi identificada em 1982 e, desde então, tem sido tratada como um problema de saúde pública. Atualmente, é uma das principais causas de diarreia no mundo. Em 1996, cerca de 9.000 pessoas no Japão ficaram doentes e sete morreram como resultado de uma infecção por *E. coli* O157:H7. Os surtos recentes de *E. coli* O157:H7 nos Estados Unidos, associados com carne mau cozida e bebidas não pasteurizadas, levaram os órgãos de saúde a solicitar o desenvolvimento de novos métodos de detecção da bactéria nos alimentos.

Em 1995, infecções causadas por **bactérias comedoras de carne** (*flesh-eating bacteria*) foram matéria de capa dos principais jornais. As bactérias são mais corretamente chamadas de *Streptococcus* **invasivos do grupo A**, ou **IGAS** (de *invasive group A Streptococcus*). As taxas de IGAS têm aumentado nos Estados Unidos, na Escandinávia, na Inglaterra e no País de Gales.

Em 1995, um técnico de laboratório de um hospital na República Democrática do Congo, que havia apresentado febre e diarreia sanguinolenta, foi submetido a uma cirurgia por suspeita de intestino perfurado. Subsequentemente à cirurgia, ele teve uma hemorragia, e seu sangue começou a coagular nos vasos sanguíneos. Poucos dias depois, enfermeiros do hospital onde o paciente estava sendo tratado começaram a desenvolver sintomas similares. Um deles foi transferido para um hospital de outra cidade; as pessoas desse segundo hospital que cuidaram deste paciente também desenvolveram os sintomas. Durante o período da epidemia, 315 pessoas tinham contraído a **febre hemorrágica do Ebola** (ou **EHF**, de *Ebola hemorrhagic fever),* e 75% dessas pessoas morreram. A epidemia foi controlada quando os microbiologistas instituíram, após treinamento, o uso de equipamentos de proteção e medidas educativas na comunidade. Contato pessoal com sangue, tecidos ou outros fluidos corporais infectados levou à transmissão da doença de pessoa para pessoa.

O vírus Ebola foi primeiramente isolado de humanos pelos microbiologistas durante os surtos da doença no Congo em 1976. (O vírus tem esta denominação por causa do Rio Ebola, no Congo.) Em 2008, um surto de vírus Ebola ocorreu em Uganda, com 149 casos. Em 1989 e 1996, surtos causados por outro vírus Ebola, que não estava associado à doença em humanos, ocorreram em macacos que haviam sido importados das Filipinas para os Estados Unidos.

Casos relatados do **vírus Marburg**, outro vírus de febre hemorrágica, são raros. Os primeiros casos foram de trabalhadores de laboratórios na Europa que manipulavam macacos verdes africanos de Uganda. Quatro surtos foram identificados na África entre 1975 e 1998, envolvendo 2 a 154 pessoas com uma taxa de mortalidade de 56%. Em 2004, um surto matou 227 pessoas. Os microbiologistas têm estudado muitos animais diferentes, mas até hoje não descobriram o reservatório (fonte) natural dos vírus Ebola e Marburg.

Em 1993, um surto de **criptosporidiose**, transmitida pelo suprimento público de água de Milwaukee, Wisconsin (USA), resultou em diarreia em um número estimado de 403.000 pessoas. O micro-organismo responsável por esse surto foi o protozoário *Cryptosporidium*. Este protozoário foi relatado como causador de

doença em humanos em 1976, e atualmente é responsável por cerca de 30% dos casos de diarreia em países em desenvolvimento. Nos Estados Unidos, a transmissão tem ocorrido via água potável, piscinas e materiais hospitalares contaminados.

A **síndrome da imunodeficiência adquirida** (**Aids**, de *acquired immunodeficiency syndrome*) chamou a atenção do público pela primeira vez em 1981, quando alguns jovens homossexuais morreram de um tipo raro de pneumonia, conhecida como pneumonia por *Pneumocystis*. Esses homens tinham sofrido um grande enfraquecimento do sistema imune, que em geral combate as doenças infecciosas. Esses casos foram rapidamente correlacionados com um número incomum de ocorrências de uma forma rara de câncer, o sarcoma de Kaposi, entre jovens homossexuais do sexo masculino. Aumentos similares no aparecimento de doenças raras foram encontrados entre hemofílicos e usuários de drogas injetáveis.

Os pesquisadores rapidamente descobriram que a causa da Aids era um vírus previamente desconhecido (veja a Figura 1.1e). O vírus, agora conhecido como **vírus da imunodeficiência humana** (**HIV**, de *human immunodeficiency virus*), destrói linfócitos T $CD4^+$, um tipo de célula do sangue importante para as defesas do sistema imune. A doença e a morte resultam das infecções por micro-organismos ou pelo surgimento de células cancerosas que, em outras circunstâncias, seriam combatidas pelas defesas naturais do organismo. Até o momento, a doença tem sido fatal a partir do desenvolvimento dos sintomas.

Por meio do estudo das características da doença, os médicos pesquisadores descobriram que o HIV poderia ser transmitido por meio de relações sexuais, pelo uso de agulhas contaminadas, a partir de mães infectadas, que transmitem a doença para os recém-nascidos via amamentação, ou ainda por transfusões de sangue – em resumo, pela transmissão de fluidos corporais de uma pessoa para outra. Desde 1985, o sangue usado para transfusões tem sido analisado de forma cuidadosa quanto à presença de HIV, e atualmente é quase improvável que o vírus seja transmitido por esse meio.

Ao final de 2007, mais de 1 milhão de pessoas nos Estados Unidos haviam sido diagnosticadas com Aids, e mais de 50% delas morreram por causa da doença. Um número ainda maior de pessoas apresentou resultado positivo para a presença do HIV no sangue. Até 2007, os órgãos de saúde estimaram que 1,2 milhão de americanos tinha infecção por HIV. Em 2007, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que mais de 30 milhões de pessoas no mundo inteiro vivem com HIV/Aids e que 14.000 novas infecções ocorrem a cada dia.

Desde 1994, novos tratamentos vêm aumentando a expectativa de vida das pessoas com Aids; contudo, cerca de 40.000 novos casos ocorrem todos os anos nos Estados Unidos. A maioria dos indivíduos com a doença faz parte do grupo de pessoas em idade sexualmente ativa. Devido ao fato de os parceiros heterossexuais portadores de Aids apresentarem alto risco de infecção, os órgãos de saúde pública estão preocupados com a possibilidade de que mais mulheres e grupos de minorias venham a contrair Aids. Em 1997, o diagnóstico do HIV começou a aumentar entre as mulheres e as minorias. Entre os casos de Aids relatados em 2005, 26% foram de mulheres e 49% de afro-americanos.

Nos meses e anos que virão, os cientistas continuarão a aplicar as técnicas microbiológicas para auxiliar a entender mais sobre a estrutura do HIV, como ele é transmitido, como cresce nas células e causa a doença, como as drogas podem ser direcionadas contra ele e se uma vacina eficiente pode ser desenvolvida. Os órgãos de saúde pública também têm como foco a prevenção da doença por meio da educação.

A Aids apresenta-se como uma das maiores ameaças à saúde deste século, mas não é a primeira grande epidemia de doença sexualmente transmissível. A sífilis também foi uma doença epidêmica fatal. Até 1941, a sífilis causou um número estimado de 14.000 mortes por ano nos Estados Unidos. Com poucas drogas disponíveis para o tratamento da sífilis e nenhuma vacina para preveni-la, os esforços para controlar a doença tinham como foco principal modificações dos comportamentos sexuais e o uso de preservativos. O desenvolvimento de drogas para o tratamento da sífilis contribui de forma significativa para impedir a disseminação da doença. De acordo com o Centro de Prevenção e Controle de Doenças (CDC, de *Centers for Disease Control and Prevention*), os casos relatados de sífilis diminuíram de um alto índice de 575.000 em 1943 para 5.979 em 2004, o número mais baixo de casos já registrado. Entretanto, desde então, o número de casos vem aumentando.

Assim como as técnicas microbiológicas ajudaram os cientistas no combate à sífilis e à varíola, elas ajudarão os cientistas a descobrir as causas de novas doenças infecciosas emergentes no século XXI. Sem dúvida, surgirão novas doenças. Os vírus Ebola e *Influenzavirus* são alguns exemplos de viroses que podem estar mudando suas habilidades para infectar diferentes espécies hospedeiras. Doenças infecciosas emergentes serão discutidas posteriormente no Capítulo 14 na página 416.

As doenças infecciosas podem ressurgir devido à resistência aos antibióticos (Veja o quadro no Capítulo 26 na página 751), e pelo uso de micro-organismos como armas biológicas. (Veja o quadro no Capítulo 23 na página 644.) O fracasso das medidas de saúde pública no controle prévio de infecções resultou em casos inesperados de tuberculose, coqueluche e difteria (veja o Capítulo 24).

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Diferencie microbiota normal de doenças infecciosas. **1-16**
- ✓ Por que os biofilmes são importantes? **1-17**
- ✓ Quais são os fatores que contribuem para o surgimento de uma doença infecciosa? **1-18**

* * *

As doenças aqui mencionadas são causadas por vírus, bactérias, protozoários e prions – tipos de micro-organismos. Este livro vai apresentá-lo à enorme variedade de organismos microscópicos e mostrar como os microbiologistas utilizam técnicas e procedimentos específicos para estudar os micro-organismos que causam doenças como a Aids e a diarreia – e doenças que ainda não foram descobertas. Você também aprenderá como o corpo responde às infecções microbianas e como certas drogas combatem as doenças provocadas por micro-organismos. Finalmente, você aprenderá sobre os papéis benéficos que os micro-organismos apresentam no mundo que nos cerca.

RESUMO PARA ESTUDO

Os micróbios em nossas vidas (p. 2)

1. Os seres vivos muito pequenos para serem vistos a olho nu são chamados de micro-organismos.
2. Os micro-organismos são importantes para a manutenção do equilíbrio ecológico da Terra.
3. Alguns micro-organismos vivem associados ao homem e a outros animais, sendo necessários para a manutenção de uma boa saúde.
4. Alguns micro-organismos são utilizados para produzir alimentos e produtos químicos.
5. Alguns micro-organismos causam doenças.

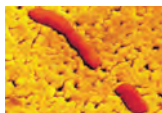
Nomeando e classificando os micro-organismos (p. 2-6)

Nomeclatura (p. 2)

1. Em um sistema de nomenclatura descrito por Carolus Linnaeus (1735), cada organismo vivo é identificado por dois nomes.
2. Os dois nomes consistem em um gênero e um epíteto específico, sendo ambos escritos em itálico ou sublinhados.

Tipos de micro-organismos (p. 3-6)

Bactérias (p. 3, 4)

3. As bactérias são organismos unicelulares. Por não terem um núcleo, as células são descritas como procarióticas.
4. As três principais formas de bactérias são bacilos, cocos e espirilos.
5. A maioria das bactérias tem uma parede celular de peptideoglicano; elas dividem-se por fissão binária, e muitas possuem flagelos.
6. As bactérias podem usar uma ampla variedade de compostos químicos para a sua nutrição.

Arquibactérias (p. 4)

7. As arquibactérias são células procarióticas, com peptideoglicano em suas paredes celulares.
8. As arquibactérias incluem as metanogênicas, as halofílicas extremas e as termofílicas extremas.

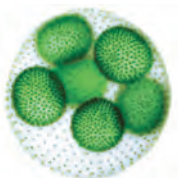
Fungos (p. 4)

9. Os fungos (cogumelos, bolores e leveduras) possuem células eucarióticas (células com núcleo verdadeiro). A maioria dos fungos é multicelular.
10. Os fungos obtêm os nutrientes pela absorção do material orgânico do ambiente.

Protozoários (p. 4, 6)

11. Os protozoários são eucariotos unicelulares.
12. Os protozoários obtêm seus alimentos pela absorção ou ingestão através de estruturas especializadas.

Algas (p. 6)

13. As algas são eucariotos unicelulares ou multicelulares que obtêm seus alimentos por meio da fotossíntese.
14. As algas produzem oxigênio e carboidratos, que são utilizados por outros organismos.

Vírus (p. 6)

15. Os vírus são entidades acelulares que são parasitas de células.
16. Os vírus consistem em um núcleo formado por ácido nucleico (DNA ou RNA) circundado por um envoltório proteico. Um envelope pode circundar o envoltório.

Parasitas multicelulares de animais (p. 6)

17. Os principais grupos de parasitas animais multicelulares são os vermes chatos e os redondos, coletivamente chamados de helmintos.
18. Os estágios microscópicos no ciclo de vida dos helmintos são identificados por procedimentos microbiológicos tradicionais.

Classificação dos micro-organismos (p. 6)

19. Todos os organismos são classificados em Bacteria, Archaea ou Eukarya. Eukarya inclui protistas, fungos, plantas e animais.

Uma breve história da microbiologia (p. 6-16)

As primeiras observações (p. 7)

1. Robert Hooke observou que a cortiça era composta de "pequenas caixas"; ele introduziu o termo *célula* (1665).
2. As observações de Hooke forneceram a base para o desenvolvimento da teoria celular, o conceito de que todos os seres vivos são compostos de células.
3. Anton van Leeuwenhoek, usando um microscópio simples, foi o primeiro a observar os micro-organismos (1673).

O debate sobre a geração espontânea (p. 7, 8)

4. Até a metade da década de 1880, muitas pessoas acreditavam na geração espontânea, a ideia de que todos os organismos vivos poderiam surgir da matéria inanimada.
5. Francesco Redi demonstrou que larvas de insetos surgiam na carne em decomposição somente quando moscas depositavam seus ovos sobre a carne (1668).
6. John Needham declarou que os micro-organismos poderiam surgir espontaneamente em caldo nutriente fervido (1745).
7. Lazzaro Spallanzani repetiu os experimentos de Needham e sugeriu que os resultados de Needham eram devido à entrada de micro-organismos presentes no ar no caldo nutriente (1765).
8. Rudolf Virchow introduziu o conceito de biogênese: células vivas somente podem surgir a partir de células preexistentes (1858).
9. Louis Pasteur demonstrou que os micro-organismos estão no ar e em todos os lugares e ofereceu provas para a teoria da biogênese (1861).
10. As descobertas de Pasteur levaram ao desenvolvimento das técnicas de assepsia, usadas nos laboratórios e nos procedimentos médicos para prevenir a contaminação por micro-organismos.

A idade de ouro da microbiologia (p. 8-11)

11. A ciência da microbiologia avançou rapidamente entre 1857 e 1914.

Fermentação e pasteurização (p. 9)

12. Pasteur descobriu que as leveduras fermentam açúcares a etanol e que as bactérias podem oxidar o álcool a ácido acético.
13. O processo de aquecimento chamado de pasteurização é usado para matar bactérias em algumas bebidas alcoólicas e no leite.

A teoria do germe da doença (p. 9-11)

14. Agostino Bassi (1835) e Pasteur (1865) mostraram que os micro-organismos estão relacionados com as doenças.
15. Joseph Lister introduziu o uso do desinfetante para limpar feridas cirúrgicas com o objetivo de controlar infecções em humanos (década de 1860).
16. Robert Koch provou que os micro-organismos causam doenças. Ele usou uma sequência de procedimentos, chamados de postulados de Koch (1876), que são usados até hoje para provar que um determinado micro-organismo é o causador de uma doença específica.

Vacinação (p. 11)

17. Na vacinação, a imunidade (resistência a uma determinada doença) é conferida pela inoculação com uma vacina.
18. Em 1798, Edward Jenner demonstrou que a inoculação com material proveniente de lesões da varíola bovina proporciona aos seres humanos imunidade contra varíola.
19. Por volta de 1880, Pasteur descobriu que bactérias avirulentas poderiam ser utilizadas como vacina para cólera em aves; ele criou a palavra *vacina*.
20. As vacinas modernas são preparadas a partir de micro-organismos vivos avirulentos ou patógenos mortos, de componentes isolados do patógeno e por técnicas de DNA recombinante.

O nascimento da quimioterapia moderna: sonhos de uma "bala mágica" (p. 12, 13)

21. Quimioterapia é o tratamento químico de uma doença.
22. Dois tipos de agentes quimioterápicos são drogas sintéticas (quimicamente preparadas em laboratório) e antibióticos (substâncias produzidas naturalmente por bactérias e fungos para inibir o crescimento de outros micro-organismos).
23. Paul Ehrlich introduziu um composto contendo arsênio chamado de salvarsan para tratar a sífilis (1910).
24. Alexander Fleming observou que o fungo *Penicillium* inibia o crescimento de uma cultura bacteriana. Ele chamou o ingrediente ativo de penicilina (1928).
25. A penicilina tem sido usada clinicamente como antibiótico desde a década de 1940.
26. Os pesquisadores estão estudando o problema de micro-organismos resistentes a drogas.

Progressos recentes na microbiologia (p. 13-16)

27. Bacteriologia é o estudo das bactérias, micologia é o estudo dos fungos e parasitologia é o estudo dos protozoários e vermes parasitas.
28. Os microbiologistas estão utilizando a genômica, que é o estudo de todos os genes de um organismo, para classificar bactérias, fungos e protozoários.
29. O estudo da Aids, a análise da ação dos interferons e o desenvolvimento de novas vacinas estão entre as pesquisas de maior interesse na imunologia.
30. As novas técnicas de biologia molecular e microscopia eletrônica têm fornecido novas ferramentas para o avanço do nosso conhecimento sobre virologia.
31. O desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante tem promovido avanços em todas as áreas da microbiologia.

Os micróbios e o bem-estar humano (p. 16-18)

1. Os micro-organismos degradam plantas e animais mortos reciclando os elementos químicos para serem utilizados pelas plantas e pelos animais vivos.
2. As bactérias são usadas para decompor a matéria orgânica presente em esgotos.
3. O processo de biorremediação é a utilização de bactérias para limpar resíduos tóxicos.
4. As bactérias que causam doenças em insetos estão sendo utilizadas como agentes de controle biológico de pragas. Os controles biológicos são específicos para determinadas pragas e não prejudicam o meio ambiente.
5. O uso de micro-organismos na produção de alimentos e compostos químicos é chamado de biotecnologia.
6. Com o auxílio de técnicas de DNA recombinante, as bactérias podem produzir substâncias importantes como proteínas, vacinas e enzimas.
7. Na terapia gênica, os vírus são usados para transportar substitutos para os genes defeituosos ou ausentes em células humanas.
8. Bactérias geneticamente modificadas são utilizadas na agricultura para proteger as plantas contra insetos e contra o frio, e para prolongar o tempo de prateleira de um produto.

Os micróbios e as doenças humanas (p. 19-21)

1. Todas as pessoas possuem micro-organismos na superfície e dentro do corpo. Eles constituem a microbiota ou flora normal.
2. A capacidade de uma determinada espécie de micróbio de causar doença e a resistência do organismo hospedeiro serão fatores importantes para determinar se uma pessoa contrairá ou não uma doença.
3. As comunidades bacterianas que formam as camadas limosas sobre superfícies são chamadas de biofilmes.
4. Uma doença infecciosa é aquela em que o patógeno invade um hospedeiro suscetível.
5. Uma doença infecciosa emergente é uma doença nova ou modificada que mostra um aumento na incidência em um passado recente ou um potencial para aumento em um futuro próximo.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Como surgiu a ideia da geração espontânea?
2. Discuta brevemente o papel dos micro-organismos em cada uma das seguintes situações:
   a. Controle biológico de pragas
   b. Reciclagem de elementos
   c. Microbiota normal

d. Tratamento de esgotos
e. Produção de insulina humana
f. Produção de vacinas
g. Biofilmes

3. Dentro de qual campo da microbiologia as seguintes pesquisas poderiam ser melhor encaixadas?

Pesquisa	Campo
____a. Estudos sobre a biodegradação de resíduos tóxicos	1. Biotecnologia
____b. Estudos sobre o agente causador da febre hemorrágica Ebola	2. Imunologia
____c. Estudos sobre a produção de proteínas humanas por bactérias	3. Ecologia microbiana
____d. Estudos sobre os sintomas da Aids	4. Genética microbiana
____e. Estudos sobre a produção de toxinas por *E. coli*	5. Fisiologia microbiana
____f. Estudos sobre o ciclo de vida de *Cryptosporidium*	6. Biologia molecular
____g. Desenvolvimento da terapia gênica para uma doença	7. Micologia
____h. Estudos sobre o fungo *Candida albicans*	8. Virologia

4. Correlacione os micro-organismos da coluna A com as suas descrições na coluna B.

Coluna A	Coluna B
____a. Arquibactérias	1. Não são compostos por células
____b. Algas	2. A parede celular é feita de quitina
____c. Bactérias	3. A parede celular é feita de peptideoglicano
____d. Fungos	4. A parede celular é feita de celulose; fotossintética
____e. Helmintos	5. Unicelulares, células de estrutura complexa, sem a parede celular
____f. Protozoários	6. Animais multicelulares
____g. Vírus	7. Procariotos sem parede celular de peptedioglicano

5. Faça a correspondência entre os cientistas na coluna A e suas contribuições para o avanço da microbiologia na coluna B.

Coluna A	Coluna B
____a. Avery, MacLeod e McCarty	1. Desenvolvimento da vacina contra a varíola
____b. Beadle e Tatum	2. Descobriu como o DNA controla a síntese de proteína na célula
____c. Berg	3. Descobriu a penicilina
____d. Ehrlich	4. Descobriu que o DNA pode ser transferido de uma bactéria para outra
____e. Fleming	5. Refutou a geração espontânea
____f. Hooke	6. O primeiro a caracterizar um vírus
____g. Iwanowski	7. O primeiro a usar desinfetantes em procedimentos cirúrgicos
____h. Jacob e Monod	8. O primeiro a observar as bactérias
____i. Jenner	9. O primeiro a observar células em material vegetal e a nomeá-las.
____j. Koch	10. Observou que os vírus podem ser filtrados
____k. Lancefield	11. Provou que o DNA é o material hereditário
____l. Lederberg e Tatum	12. Provou que os micro-organismos podem causar doenças
____m. Lister	13. Precanizou que as células vivas surgem de células vivas preexistentes
____n. Pasteur	14. Mostrou que os genes codificam as enzimas
____o. Stanley	15. Misturou DNA animal com DNA bacteriano
____p. van Leeuwenhoek	16. Usou bactérias para produzir acetona
____q. Virchow	17. Usou o primeiro agente quimioterápico sintético
____r. Weizmann	18. Propôs um sistema de classificação para os estreptococos com base nos antígenos da parede celular

6. O nome genérico de uma bactéria é "erwinia" e o epíteto específico é "amylovora". Escreva o nome científico desse micro-organismo corretamente. Utilizando esse nome como exemplo, explique como os nomes científicos são escolhidos.
7. Os seguintes micro-organismos podem ser comprados em uma loja. Forneça uma razão para a compra de cada um deles.
   a. *Bacillus thuringiensis.*
   b. *Saccharomyces.*
8. **DESENHE** Mostre no desenho onde os micro-organismos do ar terminaram no experimento de Pasteur.

Múltipla escolha

1. Qual dos seguintes nomes é um nome científico?
   a. *Mycobacterium tuberculosis.*
   b. Bacilo do tubérculo.
2. Qual das seguintes características *não* é típica de bactérias?
   a. São procariotos.
   b. As paredes celulares têm peptideoglicano.
   c. Apresentam a mesma forma.
   d. Multiplicam-se por fissão binária.
   e. Têm a capacidade de locomoção.
3. Qual dos seguintes elementos é o mais importante na teoria do germe da doença de Koch? O animal mostra sintomas da doença quando:
   a. O animal esteve em contato com um animal doente.
   b. O animal apresenta uma diminuição na resistência.
   c. Um micro-organismo é observado no animal.
   d. Um micro-organismo é inoculado no animal.
   e. Micro-organismos podem ser cultivados a partir do animal.
4. O DNA recombinante é:
   a. O DNA na bactéria.
   b. O estudo de como os genes funcionam.
   c. O DNA resultante da mistura de genes de dois organismos diferentes.
   d. O uso de bactérias na produção de alimentos.
   e. A produção de proteínas pelos genes.
5. Qual das seguintes definições é a melhor definição para biogênese?
   a. Matéria inanimada dá origem a organismos vivos.
   b. Células vivas podem surgir de células preexistentes.
   c. Uma força vital é necessária para a vida.
   d. O ar é necessário para os organismos vivos.
   e. Os micro-organismos podem ser gerados a partir de matéria inanimada.
6. Qual das seguintes afirmativas é uma atividade benéfica de micro-organismos?
   a. Alguns micro-organismos são usados como alimento pelo homem.
   b. Alguns micro-organismos usam dióxido de carbono.

c. Alguns micro-organismos fornecem nitrogênio para o crescimento das plantas.
   d. Alguns micro-organismos são usados nos processos de tratamento de esgotos.
   e. Todas as afirmativas.

7. Tem sido dito que as bactérias são essenciais para a existência de vida na Terra. Qual das seguintes funções seria um papel essencial realizado pelas bactérias?
   a. Controle de populações de insetos.
   b. Fornecimento direto de alimentos para o homem.
   c. Decomposição de matéria orgânica e reciclagem de elementos.
   d. Causa de doenças.
   e. Produção de hormônios para o homem, como a insulina.

8. Qual dos seguintes exemplos é um processo de biorremediação?
   a. Aplicação de bactérias degradadoras de óleos em áreas com derramamento de óleo.
   b. Aplicação de bactérias em uma lavoura para prevenir o congelamento.
   c. Fixação de nitrogênio atmosférico em nitrogênio utilizável pelas plantas.
   d. Produção por bactérias de uma proteína humana, como o interferon.
   e. Todas as alternativas.

9. A conclusão de Spallanzani sobre a geração espontânea foi criticada porque Lavoisier havia demonstrado que o oxigênio era um componente vital do ar. Qual das seguintes afirmações é verdadeira?
   a. Toda a vida necessita de ar.
   b. Somente os organismos causadores de doenças necessitam de ar.
   c. Alguns micro-organismos não necessitam de ar.
   d. Pasteur manteve o ar fora em seus experimentos sobre biogênese.
   e. Lavoisier estava errado.

10. Qual das seguintes definições sobre *E. coli não* é verdadeira?
   a. A *E. coli* foi a primeira bactéria causadora de doença identificada por Koch.
   b. A *E. coli* é parte da microbiota normal humana.
   c. A *E. coli* é benéfica no intestino humano.
   d. Uma linhagem causadora de doença de *E. coli* provoca diarreia sanguinolenta.
   e. Nenhuma das alternativas.

Pensamento crítico

1. Como a teoria da biogênese abriu o caminho para a teoria do germe da doença?

2. Mesmo que a teoria do germe da doença não tivesse sido demonstrada até 1876, porque Semmelweis (1840) e Lister (1867) sustentaram a utilização de técnicas assépticas?

3. Cite pelo menos três produtos encontrados em supermercado feitos por micro-organismos. (Dica: o rótulo deverá indicar o nome científico do micro-organismo ou incluir as palavras *cultura*, *fermentado* ou *panificação.*)

4. As pessoas acreditavam que todas as doenças microbianas seriam controladas no século XX. Indique uma doença infecciosa emergente. Liste três razões para estarmos identificando novas doenças atualmente.

Aplicações clínicas

1. A ocorrência de artrite nos Estados Unidos é de 1 entre 100.000 crianças. Contudo, 1 entre 10 crianças em Lyme, Connecticut, desenvolveu artrite entre os meses de junho e setembro de 1973. Allen Steere, um reumatologista da Universidade de Yale, investigando os casos de Lyme, concluiu que 25% dos pacientes lembravam-se de ter tido erupções cutâneas durante seus episódios de artrite e que a doença fora tratada com penicilina. Steere conclui que se tratava de uma nova doença infecciosa e que não tinha uma causa imunológica, genética ou ambiental.
   a. Qual foi o fator que levou Steere a chegar a essa conclusão?
   b. Qual era a doença?
   c. Por que a doença foi mais prevalente entre os meses de junho e setembro?

2. Em 1864, Lister observou que os pacientes se recuperavam completamente de fraturas simples, mas que fraturas múltiplas tinham "consequências desastrosas". Ele sabia que a aplicação de fenol (ácido carbólico) nos campos da cidade de Carlisle prevenia doenças no gado. Lister tratou fraturas múltiplas com fenol e seus pacientes se recuperaram sem complicações. Como Lister foi influenciado pelo trabalho de Pasteur? Por que o trabalho de Koch ainda se faz necessário?

2 Princípios Químicos

Podemos observar uma árvore apodrecer ou sentir o cheiro do leite azedando, mas não podemos perceber o que está acontecendo no nível microscópico. Uma árvore apodrece quando micro-organismos decompõem a madeira. O leite azeda pela produção de ácido láctico por bactérias. A maioria das atividades de micro-organismos resulta de uma série de reações químicas.

Como todos os organismos, os micro-organismos utilizam nutrientes para produzir blocos de construção química para o crescimento e outras funções essenciais para a vida. Para a maioria dos micro-organismos, a síntese desses blocos de construção exige que eles quebrem substâncias nutritivas e utilizem a energia liberada para juntar os fragmentos moleculares resultantes em novas substâncias.

A química dos micro-organismos é uma das maiores preocupações dos microbiologistas. O conhecimento da química é essencial para a compreensão do papel dos micro-organismos na natureza, como eles causam as doenças, como são desenvolvidos os métodos para diagnosticá-las, como as defesas do corpo combatem uma infecção e como os antibióticos e as vacinas são produzidos para combater os efeitos nocivos dos micro-organismos. Para entender as mudanças que ocorrem nos micro-organismos e as mudanças que os micróbios provocam no mundo ao nosso redor, precisamos saber como as moléculas são formadas e como elas interagem.

SOB O MICROSCÓPIO

Salmonella typhimurium. Essa bactéria do gênero *Salmonella* está penetrando uma célula epitelial humana.

P&R

A *Salmonella* libera uma molécula reguladora contendo aminoácidos e fosfato que induz o citoesqueleto da célula humana a mudar de forma, permitindo assim a entrada da bactéria na célula. Que tipo de composto químico é essa molécula reguladora?

Procure pela resposta neste capítulo.

A estrutura dos átomos

OBJETIVO DO APRENDIZADO

2-1 Descrever a estrutura de um átomo e sua relação com as propriedades físicas dos elementos.

Toda matéria – seja ar, pedra ou um organismo vivo – é feita de pequenas unidades chamadas de **átomos**. O átomo é o menor componente de uma substância pura que exibe as propriedades físicas e químicas desta substância; um átomo não pode ser divido em substâncias menores sem perder as suas propriedades. Os átomos interagem uns com os outros em certas combinações para formar **moléculas**. As células vivas são feitas de moléculas, algumas delas bastante complexas. A ciência que estuda a interação entre átomos e moléculas é chamada de **química**.

Os átomos são as menores unidades da matéria que se envolvem em reações químicas. Cada átomo tem um **núcleo** de localização central e partículas chamadas de **elétrons**, que se movem ao redor do núcleo em um padrão conhecido como configuração eletrônica (**Figura 2.1**). Os núcleos da maioria dos átomos são estáveis – ou seja, eles não mudam espontaneamente – e os núcleos não participam das reações químicas. O núcleo é formado de partículas carregadas positivamente (+) chamadas de **prótons** e de partículas não carregadas (neutras) chamadas de **nêutrons**. O núcleo, portanto, carrega uma carga global positiva. A **carga** é uma propriedade de algumas partículas subatômicas que produz forças de atração ou repulsão entre elas; partículas com carga oposta se atraem e partículas com a mesma carga se repelem. Nêutrons e prótons têm aproximadamente o mesmo peso, que é em torno de 1.840 vezes o peso de um elétron. A carga dos elétrons é negativa (–); e em todos os átomos o número de elétrons é igual ao número de prótons. Como a carga positiva total do núcleo é igual à carga negativa total dos elétrons, cada átomo é eletricamente neutro.

O número de prótons em um núcleo atômico varia de um (no átomo de hidrogênio) a mais de 100 (nos maiores átomos conhecidos). Os átomos frequentemente são classificados de acordo com seu **número atômico**, o número de prótons no núcleo. O número total de prótons e nêutrons em um átomo é o seu **peso atômico** aproximado.

Figura 2.1 **A estrutura de um átomo.** Neste diagrama simplificado de um átomo de carbono, note a localização central do núcleo. O núcleo contém seis nêutrons e seis prótons, embora nem todos sejam visíveis nesta representação. Os seis elétrons circulam o núcleo em regiões chamadas de camadas eletrônicas, mostradas aqui como círculos.

P Qual o número atômico deste átomo?

Elementos químicos

Todos os átomos com o mesmo número de prótons têm o mesmo comportamento químico e são classificados como o mesmo **elemento químico**. Cada elemento tem o seu próprio nome e um símbolo de uma ou duas letras. Por exemplo, o símbolo do elemento hidrogênio é H, e o símbolo do carbono é C. O símbolo do sódio é Na – as duas primeiras letras do seu nome em latim, *natrium* – para diferenciá-lo do nitrogênio, N, e do enxofre, S. A **Tabela 2.1** apresenta alguns dos elementos químicos comumente encontrados em organismos vivos, incluindo seus números e pesos atômicos. Os elementos mais abundantes na matéria viva são o hidrogênio, o carbono, o nitrogênio e o oxigênio.

A maioria dos elementos tem vários **isótopos** – átomos com números diferentes de nêutrons nos seus núcleos. Todos os isótopos de um elemento têm o mesmo número de prótons em seus núcleos, mas seus pesos atômicos diferem devido à variação no número de nêutrons. Por exemplo, em uma amostra natural de oxigênio, todos os átomos contêm oito prótons. Contudo, 99,76% dos átomos têm oito nêutrons, 0,04% contém nove nêutrons e o 0,2% restante contém dez nêutrons. Portanto, os três isótopos compondo uma amostra natural de oxigênio têm pesos atômicos de 16, 17 e 18, embora todos tenham um número atômico de oito. Os números atômicos são escritos de forma subscrita à esquerda do símbolo de um elemento químico. Os pesos atômicos são sobrescritos ao lado do número atômico. Assim, os isótopos na-

Tabela 2.1 Os elementos da vida*

Elemento	Símbolo	Número atômico	Peso atômico aproximado
Hidrogênio	H	1	1
Carbono	C	6	12
Nitrogênio	N	7	14
Oxigênio	O	8	16
Sódio	Na	11	23
Magnésio	Mg	12	24
Fósforo	P	15	31
Enxofre	S	16	32
Cloro	Cl	17	35
Potássio	K	19	39
Cálcio	Ca	20	40
Ferro	Fe	26	56
Iodo	I	53	127

*Hidrogênio, carbono, nitrogênio e oxigênio são os elementos mais abundantes nos organismos vivos.

turais do oxigênio são representados como $^{16}_{8}O$, $^{17}_{8}O$ e $^{18}_{8}O$. Os isótopos de alguns elementos são extremamente úteis em pesquisa biológica, diagnóstico médico, tratamento de algumas desordens e alguns métodos de esterilização.

Configurações eletrônicas

Em um átomo, os elétrons são dispostos em **camadas eletrônicas**, regiões que correspondem a diferentes **níveis de energia**. O arranjo é denominado **configuração eletrônica**. As camadas estão dispostas ao redor do núcleo, e cada camada pode conter um número máximo característico de elétrons – dois elétrons na camada mais interna (menor nível de energia), oito elétrons na segunda camada e oito elétrons na terceira camada, se for a mais externa (valência). A quarta, a quinta e a sexta camadas podem cada uma acomodar 18 elétrons, embora existam algumas exceções a essa generalização. A **Tabela 2.2** mostra as configurações eletrônicas dos átomos de alguns elementos encontrados nos organismos vivos.

A camada mais externa tende a ser preenchida com um número máximo de elétrons. Um átomo pode doar, aceitar ou compartilhar elétrons com outros átomos para preencher essa camada. As propriedades químicas dos átomos são em grande parte função do número de elétrons na camada mais externa. Quando a sua camada externa é preenchida, o átomo é quimicamente estável, ou inerte: ele tende a não reagir com outros átomos. O hélio (número atômico 2) e o neon (número atômico 10) são exemplos de átomos de gases inertes cujas camadas externas são preenchidas.

Quando a camada externa de um átomo está apenas parcialmente preenchida, o átomo é quimicamente instável. Este átomo reage com outros, e essa reação depende, em parte, do grau em que os níveis de energia externa são preenchidos. Observe o número de elétrons nos níveis de energia externos dos átomos na Tabela 2.2. Veremos mais tarde como o número se correlaciona com a reatividade química dos elementos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como $^{14}_{6}C$ difere de $^{12}_{6}C$? Qual é o número atômico de cada átomo de carbono? E o peso atômico? **2-1**

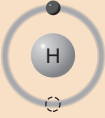
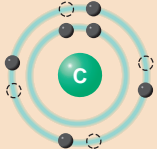
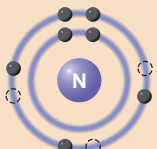
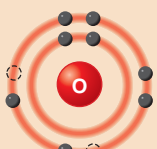
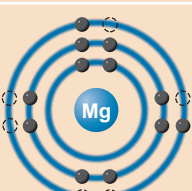
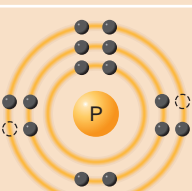
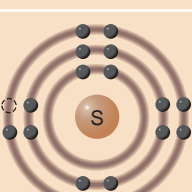
Como os átomos formam as moléculas: ligações químicas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

2-2 Definir ligação iônica, ligação covalente, ponte de hidrogênio, peso molecular e mol.

Quando o nível de energia mais externo de um átomo não está completamente preenchido, você pode pensar nele como tendo espaços não preenchidos ou elétrons extras naquele nível de energia, dependendo se é mais fácil para o átomo ganhar ou perder elétrons. Por exemplo, um átomo de oxigênio, com dois elétrons no primeiro nível de energia e seis no segundo, tem dois espaços não preenchidos na segunda camada eletrônica; um átomo de magnésio tem dois elétrons extras na sua camada mais externa. A configuração química mais estável para qualquer átomo é ter sua camada mais externa preenchida, como os gases inertes. Portanto, para esses dois átomos atingirem este estado, o oxigênio deve ganhar dois elétrons, e o magnésio deve perder dois elétrons. Todos os átomos tendem a combinar de modo que os elétrons em excesso na camada externa de um preencham os espaços da camada externa do outro; por exemplo, o oxigênio e o magnésio combinam de modo que a camada externa de cada átomo tenha um complemento integral de oito elétrons.

A **valência**, ou capacidade de combinação de um átomo, é o número de elétrons em excesso ou faltando na sua camada mais externa. Por exemplo, o hidrogênio tem uma valência de 1 (um espaço não preenchido, ou um elétron extra), o oxigênio tem uma valência de 2 (dois espaços não preenchidos), o carbono tem uma valência de 4 (quatro espaços não preenchidos, ou quatro elétrons extras) e o magnésio tem uma valência de 2 (dois elétrons extras).

Basicamente, os átomos conseguem um preenchimento completo de elétrons em suas camadas de energia mais externas combinando-se para formar moléculas, que são compostas por átomos de um ou mais elementos. Uma molécula que contenha pelo menos dois diferentes tipos de átomos, como H_2O (a molécula de água), é chamada de **composto.** Em H_2O, o subscrito 2 indica que existem dois átomos de hidrogênio; a ausência de subscrito indica que existe somente um átomo de oxigênio. As moléculas são mantidas juntas pois os elétrons de valência dos átomos combinados produzem forças atrativas, chamadas de **ligações químicas**, entre os núcleos atômicos. Portanto, a valência também pode ser vista como a capacidade de ligação de um elemento. Como energia é requerida para a formação da ligação química, cada ligação possui certa quantidade de energia química potencial.

Em geral, os átomos formam ligações de duas maneiras: ganhando ou perdendo elétrons da sua camada externa, ou compartilhando elétrons externos. Quando os átomos perdem ou ganham elétrons externos, a ligação química é chamada de ligação iônica. Quando os elétrons externos são compartilhados, a ligação é chamada de ligação covalente. Embora as ligações iônicas e covalentes sejam descritas separadamente, o tipo de ligações encontradas em moléculas na verdade não pertence por inteiro a uma categoria. Em vez disso, as ligações variam de altamente iônicas a altamente covalentes.

Ligações iônicas

Os átomos são eletricamente neutros quando o número de cargas positivas (prótons) é igual ao número de cargas negativas (elétrons). Contudo, quando um átomo isolado ganha ou perde elétrons, esse equilíbrio é alterado. Se o átomo ganha elétrons, ele adquire uma carga global negativa; se o átomo perde elétrons, ele adquire uma carga global positiva. Este átomo (ou grupo de átomos) carregado negativa ou positivamente é chamado de **íon**.

Considere os seguintes exemplos. O sódio (Na) tem 11 prótons e 11 elétrons, com um elétron na sua camada eletrônica externa. O sódio tende a perder o único elétron externo; ele é um *doador de elétrons* (**Figura 2.2a**). Quando o sódio doa um elétron a

Tabela 2.2 Configurações eletrônicas para os átomos de alguns elementos encontrados em organismos vivos

Elemento	Primeira camada eletrônica (2)*	Segunda camada eletrônica (8)*	Terceira camada eletrônica (8)*	Diagrama	Número de valência da camada eletrônica mais externa	Número de espaços não preenchidos	Número máximo de ligações formadas
Hidrogênio	1	–	–	H	1	1	1
Carbono	2	4	–	C	4	4	4
Nitrogênio	2	5	–	N	5	3	5
Oxigênio	2	6	–	O	6	2	2
Magnésio	2	8	2	Mg	2	6	2
Fósforo	2	8	5	P	5	3	5
Enxofre	2	8	6	S	6	2	6

*Os números entre parênteses indicam o número máximo de elétrons em suas respectivas camadas.

a) Um átomo de sódio (Na) perde um elétron para um aceptor de elétron e forma um íon sódio. O átomo de cloro (Cl) aceita um elétron de um doador de elétron para se tornar um íon cloreto (Cl^-).

b) Os íons sódio e cloreto são atraídos pelas suas cargas opostas e são mantidos juntos por uma ligação iônica, formando uma molécula de cloreto de sódio.

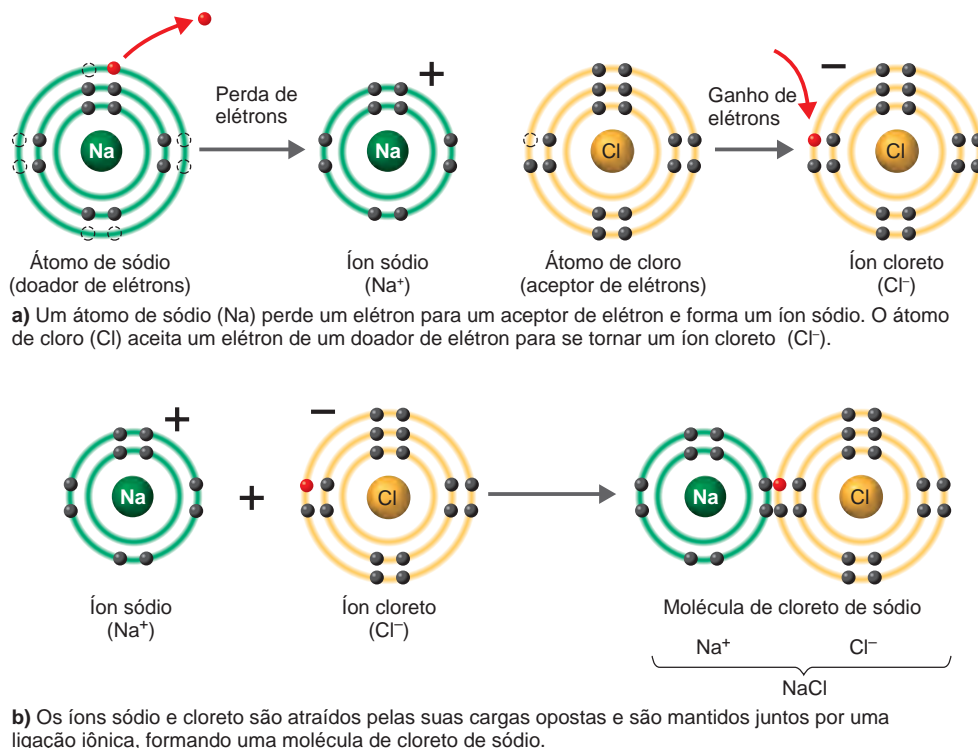



Figura 2.2 **Formação de ligação iônica.**

P **O que é uma ligação iônica?**

outro átomo, ele passa a ter 11 prótons e somente 10 elétrons e assim tem uma carga total de +1. Esse átomo de sódio positivamente carregado é chamado de íon sódio e é representado como Na^+. O cloro (Cl) tem um total de 17 elétrons, sete deles na camada eletrônica externa. Como essa camada externa pode receber oito elétrons, o cloro tende a captar um elétron que foi perdido por outro átomo; ele é um *aceptor de elétrons* (veja a Figura 2.2a). Aceitando um elétron, o cloro totaliza 18 elétrons. Contudo, ele ainda tem 17 prótons em seu núcleo. O íon cloreto tem uma carga de –1 e é representado como Cl^-.

As cargas opostas do íon sódio (Na^+) e do íon cloreto (Cl^-) se atraem. A atração, uma ligação iônica, mantém os dois átomos juntos, e uma molécula é formada (**Figura 2.2b**). A formação dessa molécula, chamada de cloreto de sódio (NaCl) ou sal de cozinha, é um exemplo comum de ligação iônica. Consequentemente, uma **ligação iônica** é uma atração entre íons de carga oposta que mantém os dois unidos para formar uma molécula estável. Apresentado de outra maneira, uma ligação iônica é uma atração entre átomos em que um átomo perde e o outro ganha elétrons. Ligações iônicas fortes, como aquela que mantém Na^+ e Cl^- juntos em cristais salinos, têm uma importância limitada nas células vivas. Contudo, as ligações iônicas mais fracas formadas em soluções aquosas (com água) são importantes para as reações bioquímicas dos micróbios e outros organismos. Por exemplo, as ligações iônicas mais fracas assumem um papel em certas reações antígeno-anticorpo – ou seja, reações em que moléculas produzidas pelo sistema imune (anticorpos) se combinam com substâncias estranhas (antígenos) para combater a infecção.

Em geral, um átomo cuja camada eletrônica externa está preenchida em menos da metade irá perder elétrons e formar íons carregados positivamente, chamados de **cátions**. Exemplos de cátions incluem o íon potássio (K^+), o íon cálcio (Ca^{2+}) e o íon sódio (Na^+). Quando a camada eletrônica externa está preenchida em mais da metade, o átomo irá ganhar elétrons e formar íons carregados negativamente, chamados de **ânions**. Exemplos incluem o íon iodeto (I^-), o íon cloreto (Cl^-) e o íon sulfeto (S^{2-}).

Ligações covalentes

Uma **ligação covalente** é uma ligação química formada por dois átomos que compartilham um ou mais pares de elétrons. As ligações covalentes são mais fortes e bem mais comuns nos organismos do que as verdadeiras ligações iônicas. Na molécula de hidrogênio, H_2, dois átomos de hidrogênio compartilham um par de elétrons. Cada átomo de hidrogênio tem seu próprio elétron mais um elétron proveniente do outro átomo (**Figura 2.3a**). O par de elétrons compartilhado orbita ao redor dos núcleos dos dois átomos. Portanto, as camadas eletrônicas externas de cada átomo estão preenchidas. Os átomos que compartilham somente um par de elétrons formam uma *ligação covalente simples*. Para simplificar, uma ligação covalente simples é expressa como uma linha simples entre os átomos (H—H). Os átomos que compartilham dois pares de elétrons formam uma *ligação covalente dupla*, representada por duas linhas

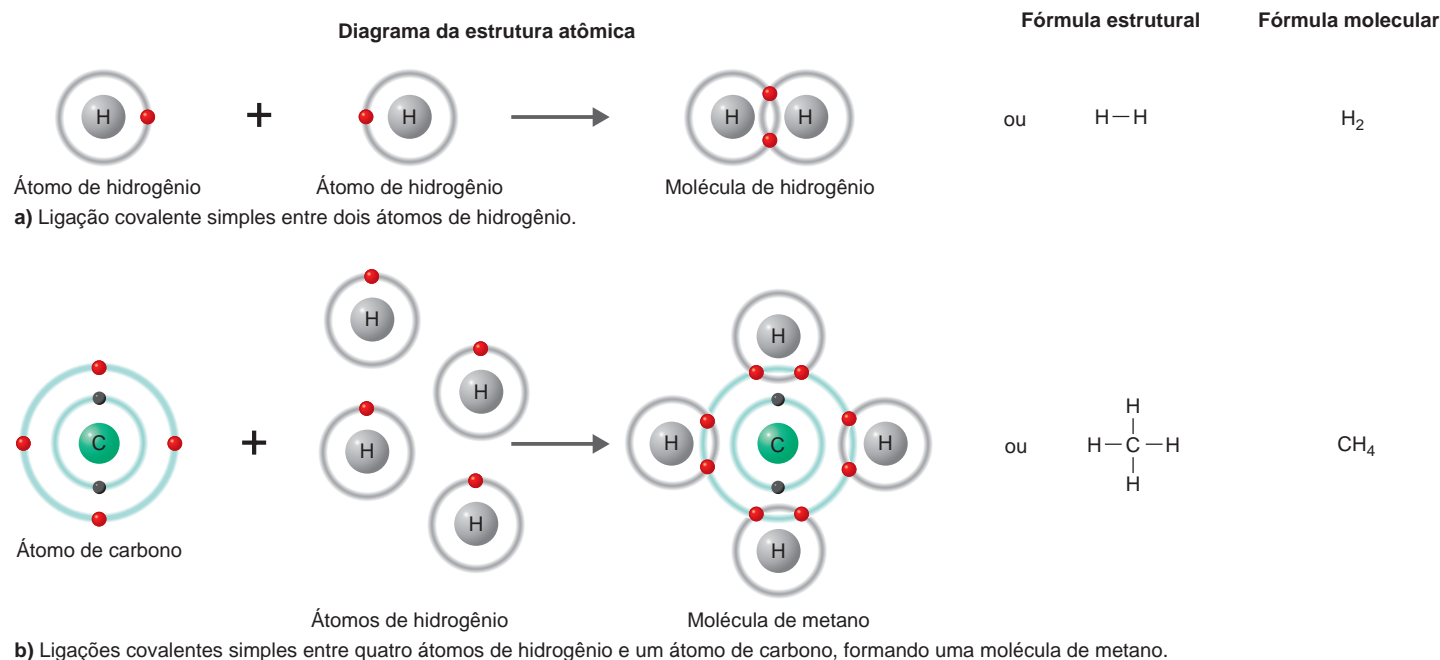



Figura 2.3 **Formação de ligações covalentes.** À direita estão indicadas as maneiras mais simples de representar as moléculas. Nas fórmulas estruturais, cada ligação covalente é representada por um traço reto entre os símbolos dos dois átomos. Nas fórmulas moleculares, o número de átomos é indicado por subscritos.

P O que é uma ligação covalente?

simples (═). Uma *ligação covalente tripla*, representada por três linhas simples (≡), ocorre quando os átomos compartilham três pares de elétrons.

Os princípios da ligação covalente aplicados aos átomos de um mesmo elemento também se aplicam a elementos diferentes. O metano (CH_4) é um exemplo de ligação covalente entre átomos de elementos diferentes (**Figura 2.3b**). A camada eletrônica externa do átomo de carbono pode conter oito elétrons, mas possui somente quatro; cada átomo de hidrogênio pode apresentar dois elétrons, mas tem somente um. Consequentemente, na molécula de metano, o átomo de carbono ganha quatro elétrons de hidrogênio para completar sua camada externa, e cada átomo de hidrogênio completa seu par compartilhando um elétron do átomo de carbono. Cada elétron externo do átomo de carbono orbita tanto o núcleo do carbono quanto o núcleo do hidrogênio. Cada elétron do hidrogênio orbita seu próprio núcleo e o núcleo do carbono.

Elementos como o hidrogênio e o carbono, cujas camadas eletrônicas externas são preenchidas pela metade, formam ligações covalentes com bastante facilidade. De fato, nos organismos vivos, o carbono quase sempre forma ligações covalentes; ele quase nunca produz um íon. *Lembre-se*: ligações covalentes são formadas pelo *compartilhamento* de elétrons entre átomos. Ligações iônicas são formadas pela *atração* entre os átomos que perderam ou ganharam elétrons e são, portanto, carregados positiva ou negativamente.

Pontes de hidrogênio

Outra ligação química de especial importância para todos os organismos é a **ligação de hidrogênio** (ou ponte de hidrogênio), na qual um átomo de hidrogênio que está ligado covalentemente a um oxigênio ou nitrogênio é atraído por outro átomo de oxigênio ou nitrogênio. Essas ligações são fracas e não ligam os átomos em moléculas. Contudo, elas servem como pontes entre diferentes moléculas ou entre várias porções de uma mesma molécula.

Quando o hidrogênio se combina com átomos de oxigênio ou nitrogênio, o núcleo maior desses grandes átomos de oxigênio ou nitrogênio tem mais prótons e atrai o elétron do hidrogênio com mais força que o núcleo pequeno do hidrogênio. Portanto, em uma molécula de água (H_2O), todos os elétrons tendem a estar mais próximos do núcleo do oxigênio que do núcleo do hidrogênio. Como resultado, a porção de oxigênio da molécula tem uma carga levemente negativa, e a porção de hidrogênio da molécula tem uma carga levemente positiva (**Figura 2.4a**). Quando a porção final de uma molécula carregada positivamente é atraída pela porção final carregada negativamente de outra molécula, uma ponte de hidrogênio é formada (**Figura 2.4b**). Essa atração também pode ocorrer entre o hidrogênio e outros átomos da mesma molécula, principalmente em grandes moléculas. O oxigênio e o nitrogênio são os elementos que, com frequência, se envolvem em pontes de hidrogênio.

As pontes de hidrogênio são consideradas mais fracas que as ligações iônicas e covalentes; elas têm apenas cerca de 5% da força

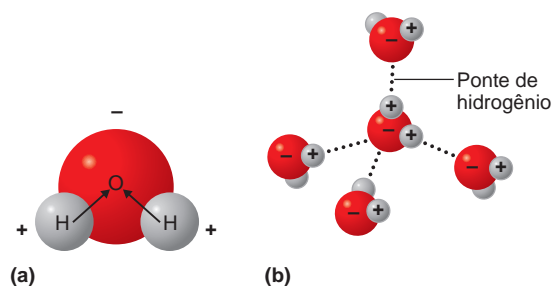



Figura 2.4 **Formação de ponte de hidrogênio na água.** **(a)** Na molécula de água, os elétrons dos átomos de hidrogênio são fortemente atraídos pelo átomo de oxigênio. Portanto, a parte da molécula de água contendo o átomo de oxigênio tem uma carga levemente negativa, e a parte contendo os átomos de hidrogênio tem uma carga levemente positiva. **(b)** Em uma ponte de hidrogênio entre moléculas de água, o hidrogênio de uma molécula de água é atraído pelo oxigênio de outra molécula de água. Várias moléculas de água podem ser atraídas umas pelas outras por pontes de hidrogênio (pontilhado).

P **Quais elementos químicos geralmente estão envolvidos na ponte de hidrogênio?**

das ligações covalentes. Em consequência, as pontes de hidrogênio são formadas e quebradas com relativa facilidade. Essa propriedade fica por conta da ligação temporária que ocorre entre certos átomos de moléculas grandes e complexas, como proteínas e ácidos nucleicos. Mesmo que as pontes de hidrogênio sejam relativamente fracas, moléculas grandes contendo várias centenas dessas ligações possuem força e estabilidade consideráveis.

Peso molecular e mol

Vimos que a formação de ligação resulta na criação de moléculas. As moléculas muitas vezes são discutidas em termos de unidades de medida chamadas de peso molecular ou moles. O **peso molecular** de uma molécula é a soma dos pesos atômicos de todos os seus átomos. Para relacionar o nível molecular ao nível laboratorial, usamos uma unidade chamada de mol. Um **mol** de uma substância é seu peso molecular expresso em gramas. Como exemplo, 1 mol de água pesa 18 gramas, pois o peso molecular de H_2O é 18 $[(2 \times 1) + 16]$.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Diferencie uma ligação iônica de uma ligação covalente. **2-2**

Reações químicas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

2-3 Diagramar os três tipos básicos de reações químicas.

Como discutido anteriormente, as **reações químicas** envolvem a construção e a quebra de ligações entre os átomos. Após uma reação química, o número total de átomos permanece o mesmo, mas aparecem novas moléculas com novas propriedades, pois os átomos foram rearranjados.

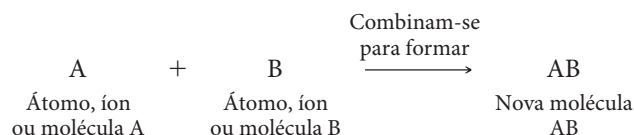
Energia nas reações químicas

Alguma mudança de energia ocorre sempre que ligações entre átomos são formadas ou quebradas durante as reações químicas. Essa energia é chamada de **energia química**. Todas as ligações químicas requerem energia quando são quebradas e liberam energia quando são formadas. Uma reação química que absorve mais energia do que libera é chamada de **reação endergônica** (*endo* = dentro), significando que a energia é direcionada para dentro. Uma reação química que libera mais energia do que absorve é chamada de **reação exergônica** (*exo* = fora), significando que a energia é direcionada para fora.

Nesta seção vamos estudar três tipos básicos de reações químicas comuns nas células vivas. Ficando familiarizados com essas reações, seremos capazes de entender as reações químicas específicas que serão discutidas mais tarde, particularmente no Capítulo 5.

Reações de síntese

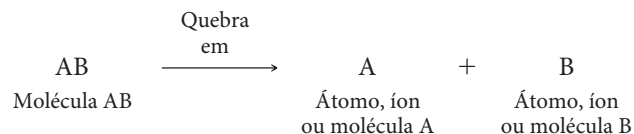
Quando dois ou mais átomos, íons ou moléculas se combinam para formar moléculas novas e maiores, a reação é chamada de **reação de síntese**. Sintetizar significa reunir, e a reação de síntese *forma novas ligações.* As reações de síntese podem ser expressas da seguinte forma:

$$\underset{\text{Átomo, íon ou molécula A}}{A} + \underset{\text{Átomo, íon ou molécula B}}{B} \xrightarrow{\text{Combinam-se para formar}} \underset{\text{Nova molécula AB}}{AB}$$

As substâncias que combinam, A e B, são chamadas de *reagentes*; a substância formada pela combinação, AB, é o *produto*. A seta indica a direção em que a reação ocorre.

As vias das reações de síntese são chamadas de reações anabólicas, ou **anabolismo**. A combinação de moléculas de açúcar para formar amido e de aminoácidos para formar proteínas são dois exemplos de anabolismo.

Reações de decomposição

O inverso da reação de síntese é a **reação de decomposição**. Decompor significa quebrar em partes menores, e em uma reação de decomposição, *ligações são quebradas*. Em geral, as reações de decomposição transformam grandes moléculas em moléculas menores, íons ou átomos. A reação de decomposição ocorre da seguinte forma:

$$\underset{\text{Molécula AB}}{AB} \xrightarrow{\text{Quebra em}} \underset{\text{Átomo, íon ou molécula A}}{A} + \underset{\text{Átomo, íon ou molécula B}}{B}$$

As reações de decomposição que ocorrem em organismos vivos são chamadas de reações catabólicas, ou **catabolismo**. Um exemplo de catabolismo é a quebra de sacarose (açúcar de mesa) em açúcares mais simples, glicose e frutose, durante a digestão. A decomposição bacteriana do petróleo é discutida no quadro da próxima página.

Biorremediação – bactérias limpando a poluição

Embora muitas bactérias tenham necessidades nutricionais similares às nossas – razão pela qual provocam deterioração de alimentos – outras metabolizam (ou processam quimicamente) substâncias que são tóxicas para a maioria das plantas e dos animais: metais pesados, enxofre, nitrogênio gasoso, petróleo e mercúrio.

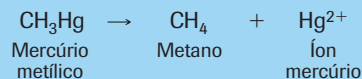
Bactérias que degradam muitos poluentes estão presentes naturalmente no solo e na água, mas em números tão baixos que não conseguem lidar de maneira eficiente com a contaminação em larga escala. Cientistas estão agora trabalhando para melhorar a eficiência desses combatentes naturais da poluição. O método que utiliza bactérias para degradar poluentes é chamado de *biorremediação*.

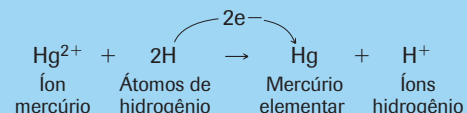
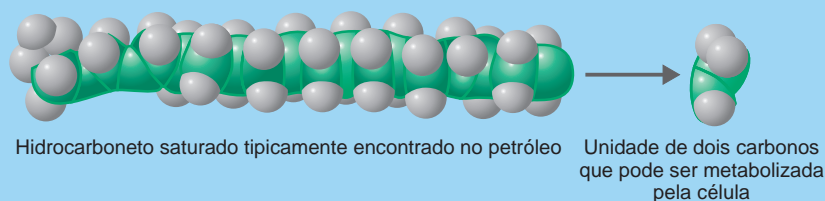
Um dos mais promissores sucessos da biorremediação ocorreu em uma praia do Alaska após o derramamento de óleo do *Exxon Valdez.* Diversas bactérias ambientais do gênero *Pseudomonas* são capazes de degradar óleo para suas necessidades em carbono e energia. Na presença de ar, elas retiram dois átomos de carbono de cada vez de uma molécula grande de petróleo (veja a figura).

As bactérias degradam o óleo de modo lento demais para limparem um derramamento. Contudo, cientistas conseguem de uma maneira muito simples acelerar o processo – que não precisa de DNA recombinante. Eles simplesmente depositam fertilizantes nitrogenados e fosfatados de plantas na praia a ser tratada. O número de bactérias para a decomposição de óleo aumenta em relação ao número presente em praias de controle não fertilizadas, e o óleo é rapidamente eliminado na praia tratada.

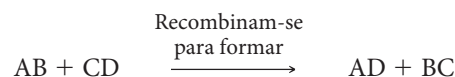
Outro grupo de bactérias está sendo avaliado por sua capacidade de eliminar contaminação por mercúrio, que está presente em substâncias tão comuns como tinta descartada e lâmpadas fluorescentes, podendo passar para o solo e a água a partir de depositos de lixos. A bactéria *Desulfovibrio desulfuricans* pode de fato transformar o mercúrio pela adição de um grupo metila, o que o converte no extremamente tóxico mercúrio metílico. O mercúrio metílico em lagos ou pântanos passa para organismos menores como o plâncton, que serve de alimento para organismos maiores, que por sua vez são comidos pelos peixes. Intoxicações de peixes e seres humanos já foram atribuídas ao mercúrio metílico.

Contudo, outras bactérias, como espécies de *Pseudomonas*, podem oferecer a solução. Para evitar a intoxicação por mercúrio, essas bactérias inicialmente convertem o mercúrio metílico em íon mercúrio:

$$\underset{\text{Mercúrio metílico}}{CH_3Hg} \longrightarrow \underset{\text{Metano}}{CH_4} + \underset{\text{Íon mercúrio}}{Hg^{2+}}$$

Muitas bactérias podem converter o íon mercúrio, carregado positivamente, na sua forma elementar relativamente inócua pela adição de elétrons que elas retiram de átomos de hidrogênio:

$$\underset{\text{Íon mercúrio}}{Hg^{2+}} + \underset{\text{Átomos de hidrogênio}}{2H} \xrightarrow{2e^-} \underset{\text{Mercúrio elementar}}{Hg} + \underset{\text{Íons hidrogênio}}{H^+}$$

Ao contrário de algumas formas de limpeza ambiental, nas quais substâncias nocivas são removidas de um lugar para serem depositadas em outro, a limpeza bacteriana elimina a substância tóxica e frequentemente devolve uma substância inofensivas ou útil ao ambiente.

Reações de troca

Todas as reações químicas têm como base a síntese ou a decomposição. Muitas reações, como as **reações de troca**, são de fato parte síntese e parte decomposição. Uma reação de troca funciona da seguinte maneira:

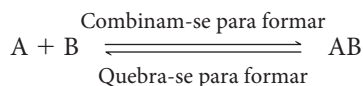
$$AB + CD \xrightarrow{\text{Recombinam-se para formar}} AD + BC$$

Primeiro, as ligações entre A e B e entre C e D são quebradas em um processo de decomposição. Novas ligações são então formadas entre A e D e entre B e C em um processo de síntese. Por exemplo, uma reação de troca ocorre quando o hidróxido de sódio

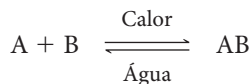
(NaOH) e o ácido clorídrico (HCl) reagem para formar sal de cozinha (NaCl) e água (H_2O), como segue:

$$NaOH + HCl \longrightarrow NaCl + H_2O$$

A reversibilidade das reações químicas

Todas as reações químicas são, em teoria, reversíveis; ou seja, podem ocorrer em qualquer direção. Na prática, contudo, algumas reações ocorrem com mais facilidade do que outras. Uma reação química facilmente reversível (quando o produto final pode ser revertido às moléculas originais) é denominada **reação reversível**, sendo indicada por duas setas, como mostrado aqui:

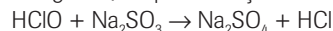
$$A + B \underset{\text{Quebra-se para formar}}{\overset{\text{Combinam-se para formar}}{\rightleftharpoons}} AB$$

Algumas reações reversíveis ocorrem porque nem os reagentes nem os produtos finais são muito estáveis. Outras reações serão revertidas somente em condições especiais:

$$A + B \underset{\text{Água}}{\overset{\text{Calor}}{\rightleftharpoons}} AB$$

O que está escrito acima ou abaixo das setas indica a condição especial sob a qual a reação ocorre naquela direção. Nesse caso, A e B reagem para produzir AB somente quando calor é aplicado; e AB quebra em A e B somente na presença de água. Veja a Figura 2.8 na página 39 para outro exemplo.

No Capítulo 5, examinaremos os muitos fatores que afetam as reações químicas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A reação química apresentada abaixo é utilizada para remover o cloreto da água. Que tipo de reação é esta? **2-3**

$HClO + Na_2SO_3 \rightarrow Na_2SO_4 + HCl$

MOLÉCULAS BIOLÓGICAS IMPORTANTES

Os biólogos e os químicos dividem os compostos em duas classes principais: inorgânica e orgânica. Os **compostos inorgânicos** são definidos como moléculas, geralmente pequenas e de estrutura simples, que tipicamente não contêm carbono e nas quais ligações iônicas podem desempenhar um papel importante. Os compostos inorgânicos incluem a água, o oxigênio molecular, o dióxido de carbono e muitos sais, ácidos e bases.

Os **compostos orgânicos** sempre contêm carbono e hidrogênio e sua estrutura típica é complexa. O carbono é um elemento único, pois possui quatro elétrons em sua camada externa e quatro espaços não preenchidos. Ele pode combinar-se com uma grande variedade de átomos, incluindo outros átomos de carbono, para formar cadeias retas ou ramificadas e anéis. As cadeias de carbono formam a base de muitos compostos orgânicos nas células vivas, incluindo açúcares, aminoácidos e vitaminas. Os compostos orgânicos são unidos essencial ou totalmente por ligações covalentes. Algumas moléculas orgânicas, como os polissacarídeos, as proteínas e os ácidos nucleicos, são muito grandes e em geral contêm milhares de átomos. Essas moléculas gigantes são chamadas de *macromoléculas*. Na seção seguinte, apresentaremos os compostos inorgânicos e orgânicos essenciais para as células vivas.

Compostos inorgânicos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

2-4 Citar diversas propriedades da água que são importantes para os sistemas vivos.

2-5 Definir ácido, base, sal e pH.

Água

Todos os organismos vivos requerem uma ampla variedade de compostos orgânicos para o crescimento, o reparo, a manutenção e a reprodução. Desses compostos, a água é um dos mais importantes, assim como um dos mais abundantes, sendo particularmente vital aos micro-organismos. Fora da célula, os nutrientes estão dissolvidos em água, que facilita a sua passagem através da membrana celular. Dentro da célula, a água é o meio para a maioria das reações químicas. De fato, a água é o componente mais abundante na maioria das células vivas. A água constitui pelo menos 5 a 95% de todas as células, com uma média de 65 a 75%. De maneira simples, nenhum organismo pode sobreviver sem água.

A água tem propriedades estruturais e químicas que a tornam apropriada ao seu papel nas células vivas. Como discutimos, a carga total da molécula de água é neutra, mas a região do oxigênio tem uma carga levemente negativa, e a região do hidrogênio tem uma carga levemente positiva (veja a Figura 2.4a). Qualquer molécula que tenha esse tipo de distribuição desigual de cargas é chamada de **molécula polar**. A natureza polar da água dá a ela quatro características que a tornam um meio adequado para as células vivas.

Primeiro, cada molécula de água é capaz de formar quatro ligações de hidrogênio com as moléculas de água mais próximas (veja a Figura 2.4b). Essa propriedade resulta em uma forte atração entre as moléculas de água. Devido a essa forte atração, uma grande quantidade de calor é requerida para separar as moléculas de água umas das outras para formar vapor de água; portanto, a água tem um ponto de ebulição alto (100°C). Por apresentar um ponto de

ebulição tão elevado, ela existe no estado líquido na maior parte da superfície da Terra. Além disso, a ligação de hidrogênio entre as moléculas de água afeta a densidade da água, dependendo se ela ocorre como gelo ou líquido. Por exemplo, as ligações de hidrogênio na estrutura cristalina da água (gelo) fazem com que o gelo ocupe mais espaço. Como resultado, o gelo tem menos moléculas que um volume igual de água líquida. Isso torna a sua estrutura cristalina menos densa que a água líquida. Por essa razão, o gelo flutua e pode servir como uma camada isolante na superfície de lagos e rios que abrigam organismos vivos.

Segundo, a polaridade da água torna-a um excelente meio de dissolução, ou **solvente**. Muitas substâncias polares sofrem **dissociação**, ou separação, em moléculas individuais na água – ou seja, são dissolvidas. A parte negativa das moléculas de água é atraída pela parte positiva das moléculas no **soluto**, ou substância dissolvente, e a parte positiva das moléculas de água é atraída pela parte negativa das moléculas de soluto. As substâncias (como os sais) que são compostas por átomos (ou grupos de átomos) mantidos juntos por ligações iônicas tendem a se dissociar em cátions e ânions separados na água. Portanto, a polaridade da água permite que as moléculas de muitas substâncias diferentes se separem e sejam circundadas por moléculas de água (**Figura 2.5**).

Figura 2.5 Como a água age como solvente para o cloreto de sódio (NaCl). (a) O íon sódio positivamente carregado (Na^+) é atraído para a parte negativa da molécula de água. **(b)** O íon cloreto negativamente carregado (Cl^-) é atraído para a parte positiva da molécula de água. Na presença de moléculas de água, as ligações entre Na^+ e Cl^- são desfeitas, e o NaCl se dissolve na água.

P O que acontece durante a ionização?

Terceiro, a polaridade explica o papel característico da água como reagente ou produto em muitas reações químicas. Sua polaridade facilita a separação e a recombinação dos íons hidrogênio (H^+) e íons hidróxido (OH^-). A água é um reagente fundamental nos processos digestivos dos organismos, em que as moléculas maiores são quebradas em menores. As moléculas de água também estão envolvidas nas reações de síntese; a água é uma importante fonte dos hidrogênios e oxigênios que são incorporados em inúmeros compostos orgânicos nas células vivas.

Finalmente, as ligações de hidrogênio consideradas fortes entre as moléculas de água (veja a Figura 2.4b) fazem da água um excelente tampão de temperatura. Comparada com muitas outras substâncias, uma dada quantidade de água requer um grande ganho de calor para aumentar sua temperatura, e uma grande perda de calor para reduzí-la. Normalmente, a absorção de calor pelas moléculas aumenta sua energia cinética e, portanto, sua velocidade de movimento e sua reatividade. Na água, contudo, a absorção de calor quebra primeiro as ligações de hidrogênio, em vez de aumentar a velocidade de movimento. Portanto, muito mais calor deve ser aplicado para elevar a temperatura da água que para elevar a temperatura de um líquido sem ligação de hidrogênio. O inverso é verdadeiro à medida que a água esfria. Consequentemente, a água mantém uma temperatura constante com mais facilidade do que outros solventes e tende a proteger a célula de flutuações nas temperaturas ambientais.

Ácidos, bases e sais

Como visto na Figura 2.5, quando sais inorgânicos, como o cloreto de sódio (NaCl), são dissolvidos na água, eles sofrem **ionização** ou *dissociação;* ou seja, separam-se em íons. As substâncias chamadas de ácidos e bases apresentam comportamento similar.

Um **ácido** pode ser definido como uma substância que se dissocia em um ou mais íons hidrogênio (H^+) e um ou mais íons negativos (ânions). Uma **base** se dissocia em um ou mais íons positivos (cátions) um ou mais íons hidróxido carregados negativamente (OH^-), que podem aceitar ou se combinar com prótons. Assim, o hidróxido de sódio (NaOH) é uma base, pois se dissocia para liberar OH^-, que tem uma forte atração por prótons e está entre os mais importantes aceptores de prótons. Um **sal** é uma substância que se dissocia na água em cátions e ânions, nenhum dos dois sendo H^+ ou OH^-. A **Figura 2.6** mostra exemplos comuns de cada tipo de composto e como eles se dissociam na água.

Equilíbrio acidobásico: o conceito de pH

Um organismo deve manter um equilíbrio constante entre ácidos e bases para permanecer saudável. Por exemplo, se uma concentração particular de ácido ou base é muito alta ou muito baixa, as enzimas mudam de forma e não promovem de maneira eficiente as reações químicas dentro de uma célula. No ambiente aquoso dentro dos organismos, os ácidos se dissociam em íons hidrogênio (H^+) e ânions. As bases, ao contrário, se dissociam em íons hidróxido (OH^-) e cátions. Quanto mais íons hidrogênio livres na solução, mais ácida ela é. Inversamente, quanto mais íons hidróxido estão livres na solução, mais básica ou alcalina ela é.

As reações bioquímicas – ou seja, as reações químicas em sistemas vivos – são extremamente sensíveis mesmo a pequenas mudanças na acidez ou alcalinidade do ambiente no qual elas ocorrem. Na realidade, H^+ e OH^- estão envolvidos em quase todos os processos bioquímicos, e qualquer desvio em relação à estreita faixa celular de concentrações normais de H^+ e OH^- pode modificar de forma drástica as funções celulares. Por essa razão, os ácidos e as bases que são continuamente formados em um organismo devem ser mantidos em equilíbrio.

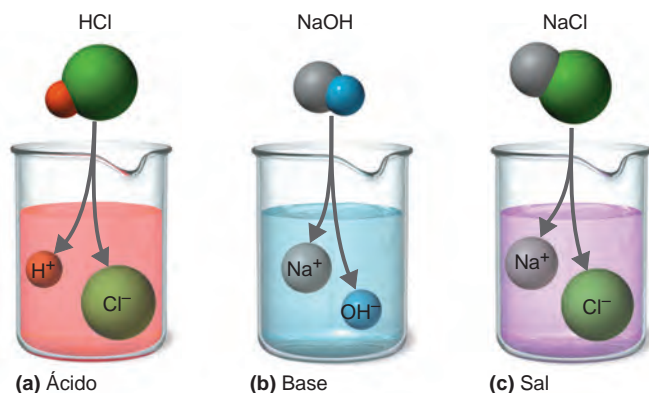



Figura 2.6 **Ácidos, bases e sais.** **(a)** Na água, o ácido hidroclórico (HCl) se dissocia em H^+ e Cl^-. **(b)** Na água, o hidróxido de sódio (NaOH), uma base, dissocia-se em OH^- e Na^+. **(c)** Na água, o sal de mesa (NaCl) se dissocia em íons positivos (Na^+) e em íons negativos (Cl^-), nenhum deles sendo H^+ ou OH^-.

P **Qual a diferença entre ácidos e bases?**

É conveniente expressar a quantidade de H^+ em uma solução por uma escala logarítmica de **pH**, que varia de 0 a 14 (**Figura 2.7**). O termo *pH* significa potencial de hidrogênio. Em uma escala logarítmica, uma variação de um número inteiro representa uma mudança de dez vezes em relação à concentração prévia. Assim, uma solução de pH 1 tem dez vezes mais íons hidrogênio que uma solução de pH 2, e 100 vezes mais íons hidrogênio que uma solução de pH 3.

O pH de uma solução é calculado como $-\log_{10}[H^+]$, o logaritmo negativo de base 10 da concentração de íon hidrogênio (simbolizada por colchetes), determinada em moles por litro $[H^+]$. Por exemplo, se a concentração de H^+ de uma solução é $1{,}0 \times 10^{-4}$ moles/litro, seu pH é igual a $-\log_{10}10^{-4} = -(-4) = 4$; isto é aproximadamente o valor de pH do vinho (veja o Apêndice B). Os valores de pH de alguns fluidos do corpo humano e de outras substâncias comuns são mostrados na Figura 2.7. No laboratório, você normalmente medirá o pH de uma solução com um medidor de pH ou com fitas para teste químico.

Soluções ácidas contêm mais H^+ que OH^- e têm pH inferior a 7. Se uma solução tem mais OH^- que H^+, é uma solução básica ou alcalina. Em água pura, uma pequena porcentagem de moléculas é dissociada em H^+ e OH^-, tendo assim um pH de 7. Como as concentrações de H^+ e OH^- são iguais, este pH é referido como o pH de uma solução neutra.

Tenha em mente que o pH de uma solução pode ser alterado. Podemos aumentar sua acidez adicionando substâncias que aumentarão a concentração de íons hidrogênio. À medida que um organismo vivo capta nutrientes, realiza reações químicas e excreta resíduos, seu equilíbrio entre ácidos e bases tende a mudar, e o pH flutua. Felizmente, os organismos possuem **tampões** naturais de pH, compostos que ajudam a impedir o pH de se alterar drasticamente. Entretanto, o pH da água ambiental e do solo pode ser alterado por subprodutos de organismos, poluentes industriais ou

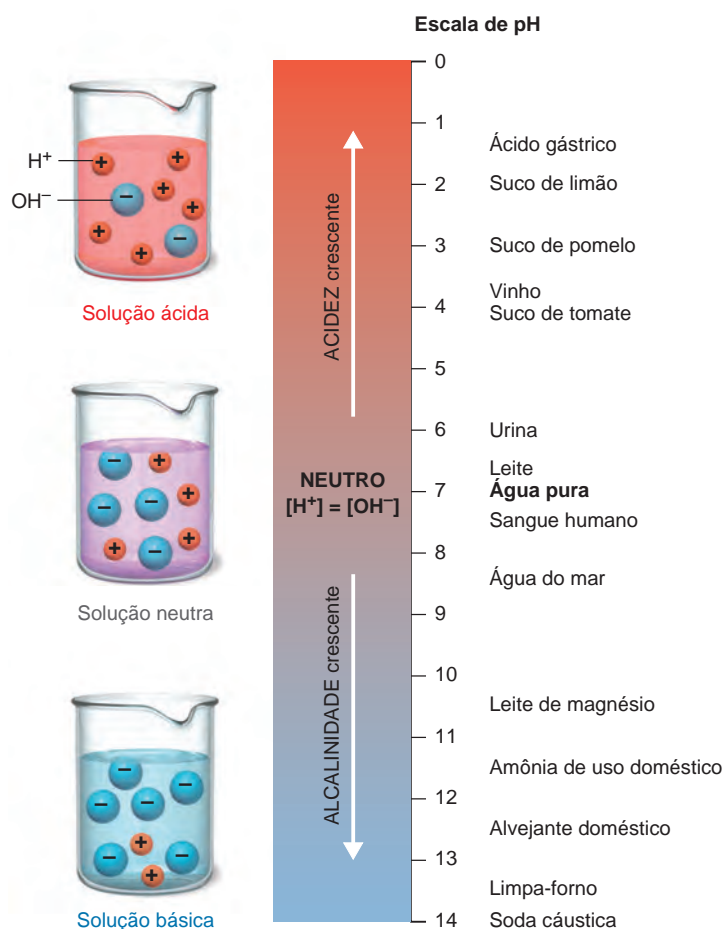



Figure 2.7 **A escala de pH.** À medida que os valores de pH diminuem de 14 para 0, a concentração de H^+ aumenta. Portanto, quanto menor o pH, mais ácida é a solução; quanto maior o pH, mais básica é a solução. Se o valor de pH de uma solução está abaixo de 7, a solução é ácida; se o pH está acima de 7, a solução é básica (alcalina). Os valores de pH aproximados de alguns fluidos do corpo humano e de substâncias comuns são mostrados junto à escala de pH.

P **Em que pH as concentrações de H^+ e OH^- são iguais?**

fertilizantes usados na agricultura ou na jardinagem. Quandos as bactérias são cultivadas em um meio laboratorial, excretam subprodutos como ácidos que podem alterar o pH do meio. Se esse efeito prosseguisse, o meio se tornaria ácido o suficiente para inibir as enzimas bacterianas e causar a morte das bactérias. Para prevenir esse problema, tampões de pH são adicionados ao meio de cultura. Um tampão de pH muito efetivo para alguns meios de cultura utiliza uma mistura de K_2HPO_4 e KH_2PO_4 (veja a Tabela 6.3, página 166).

Diferentes micróbios atuam em diferentes faixas de pH, mas a maioria dos micro-organismos cresce melhor em ambientes com valor de pH entre 6,5 e 8,5. Entre os micro-organismos, os fungos

são mais capazes de tolerar condições ácidas, enquanto os procariontes chamados de cianobactérias tendem a se comportar melhor em ambientes alcalinos. *Propionibacterium acnes,* uma bactéria que causa a acne, tem como ambiente natural a pele humana, que tende a ser levemente ácida, com um pH próximo de 4. *Thiobacillus ferrooxidans* é uma bactéria que metaboliza o enxofre elementar e produz ácido sulfúrico (H_2SO_4). Sua faixa de pH para crescimento ótimo é de 1 a 3,5. O ácido sulfúrico produzido pela bactéria na água subterrânea é importante para dissolver o urânio e o cobre a partir de minério de baixo grau (veja o Capítulo 28).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a polaridade de uma molécula de água é importante? **2-4**

✓ Antiácidos neutralizam um ácido pela reação a seguir:
$Mg(OH)_2 + 2HCl \rightarrow MgCl_2 + H_2O$
Identifique o ácido, a base e o sal. **2-5**

Compostos orgânicos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

2-6 Diferenciar compostos orgânicos e inorgânicos.

2-7 Definir *grupo funcional.*

2-8 Identificar os blocos construtivos dos carboidratos.

2-9 Diferenciar lipídeos simples, lipídeos complexos e esteroides.

2-10 Identificar os blocos construtivos e a estrutura das proteínas.

2-11 Identificar os blocos construtivos dos ácidos nucleicos.

2-12 Descrever o papel do ATP nas atividades celulares.

Os compostos inorgânicos, excluindo a água, constituem cerca de 1 a 1,5% das células vivas. Esses componentes relativamente simples, cujas moléculas possuem apenas poucos átomos, não podem ser usados pelas células para realizar funções biológicas complexas. As moléculas orgânicas, cujos átomos de carbono podem combinar-se em uma enorme variedade de formas com outros átomos de carbono e com átomos de outros elementos, são consideradas complexas e, portanto, capazes de funções biológicas mais complicadas.

Estrutura e química

Na formação de moléculas orgânicas, os quatro elétrons externos do carbono podem participar em até quatro ligações covalentes, e os átomos de carbono podem ligar-se uns aos outros para formar cadeias lineares, cadeias ramificadas ou estruturas em anel.

Além do carbono, os elementos mais comuns nos compostos orgânicos são o hidrogênio (que pode formar uma ligação), o oxigênio (duas ligações) e o nitrogênio (três ligações). O enxofre (duas ligações) e o fósforo (cinco ligações) aparecem com menos frequência. Outros elementos são encontrados, mas somente em poucos compostos orgânicos. Os elementos que são mais abundantes nos organismos vivos são os mesmos que são mais abundantes nos compostos orgânicos (veja a Tabela 2.1).

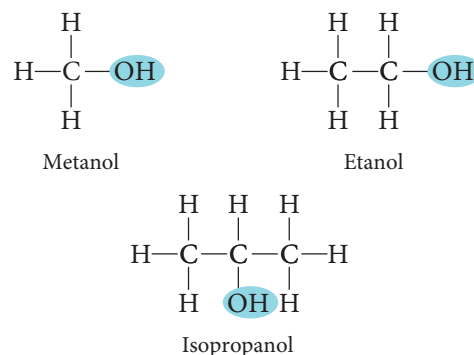
A cadeia de átomos de carbono em uma molécula orgânica é chamada de **esqueleto de carbono**; um imenso número de combinações é possível para os esqueletos de carbono. A maioria desses carbonos está ligada a átomos de hidrogênio. A ligação com outros elementos ao carbono e ao hidrogênio forma **grupos funcionais** característicos, grupos específicos de átomos que estão envolvidos mais comumente nas reações químicas e são responsáveis pela maioria das propriedades químicas características e muitas das propriedades físicas típicas de um composto orgânico particular (**Tabela 2.3**).

Grupos funcionais diferentes conferem propriedades diferentes às moléculas orgânicas. Por exemplo, o grupo hidroxila dos alcoóis é hidrofílico (com afinidade pela água) e, portanto, atrai as moléculas de água para si. Essa atração ajuda a dissolver as moléculas orgânicas contendo grupos hidroxila. Como o grupo carboxila é uma fonte de íons hidrogênio, as moléculas que o contêm possuem propriedades ácidas. O grupo amina, ao contrário, funciona como base, pois aceita facilmente íons hidrogênio. O grupo sulfidrila auxilia na estabilização da estrutura complexa de muitas proteínas.

Os grupos funcionais ajudam-nos na classificação dos compostos orgânicos. Por exemplo, o grupo –OH está presente em cada uma das seguintes moléculas.

Metanol

Etanol

Isopropanol

Devido ao fato de a reatividade característica das moléculas ser baseada no grupo –OH, elas são agrupadas em uma classe denominada alcoóis. O grupo –OH é chamado de *grupo hidroxila*, e não deve ser confundido com o *íon hidróxido* (OH^-) das bases. O grupo hidroxila dos alcoóis não se ioniza em pH neutro; ele está ligado covalentemente a um átomo de carbono.

Quando uma classe de compostos se caracteriza por certo grupo funcional, a letra *R* pode ser usada para simbolizar o restante da molécula. Por exemplo, os alcoóis em geral podem ser representados como R-OH.

Frequentemente, mais de um grupo funcional é encontrado em uma única molécula. Por exemplo, uma molécula de aminoácido contém ambos os grupos amino e carboxila. O aminoácido glicina tem a seguinte estrutura:

Grupo amino

Grupo carboxila

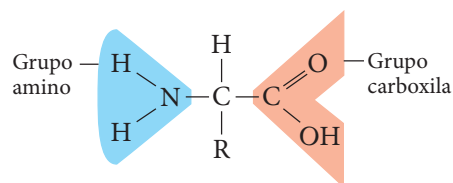



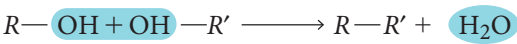
Tabela 2.3 Grupos funcionais representativos e os compostos nos quais eles são encontrados

Estrutura	Nome do grupo	Importância biológica
R—O—H	Álcool	Lipídeos, carboidratos
R—C(=O)—H	Aldeído*	Açúcares redutores como a glicose; polissacarídeos
R—C(=O)—R	Cetona*	Metabólitos intermediários
R—C(H)(H)—H	Metil	DNA; metabolismo energético
R—C(H)(H)—NH_2	Amino	Proteínas
R—C(=O)—O—R′	Éster	Membranas plasmáticas bacterianas e eucarióticas
R—C(H)(H)—O—C(H)(H)—R′	Éter	Membranas plasmáticas de arquibactérias
R—C(H)(H)—SH	Sulfidrila	Metabolismo energético; estrutura proteica
R—C(=O)—OH	Carboxila	Ácidos orgânicos, lipídeos, proteínas
R—O—P(=O)(O^-)—O^-	Fosfato	ATP, DNA

*Em um aldeído, há um C═O no final da molécula, ao contrário de um C═O que é interno em uma cetona.

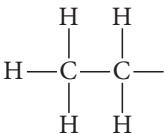
A maioria dos compostos orgânicos encontrados nos organismos vivos é bastante complexa; um grande número de átomos de carbono forma o esqueleto, e muitos grupos funcionais estão ligados a ele. Em compostos orgânicos, é importante que cada uma das quatro ligações do carbono seja ocupada (fixada a outro átomo) e que cada um dos átomos fixados tenha seu número característico de ligações preenchido. Nessa condição, essas moléculas são quimicamente estáveis.

Pequenas moléculas orgânicas podem ser combinadas em moléculas muito grandes, denominadas **macromoléculas** (*macro* = grande). As macromoléculas geralmente são **polímeros** (*poli* = muitos; *mers* = partes), moléculas grandes formadas por ligação covalente de inúmeras moléculas menores repetidas, denominadas **monômeros** (*mono* = um). Quando dois monômeros se unem, a reação normalmente envolve a eliminação de um átomo de hidrogênio de um monômero e um grupo hidroxila do outro; o átomo de hidrogênio e o grupo hidroxila se combinam para produzir água:

$$R\text{—}OH + OH\text{—}R' \longrightarrow R\text{—}R' + H_2O$$

Este tipo de reação de troca é denominado **síntese por desidratação** (*de* = a partir; *hidra* = água), ou **reação de condensação**, pois uma molécula de água é liberada (**Figura 2.8a**). Macromoléculas como carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos são montadas na célula, essencialmente por meio de síntese por desidratação. Contudo, outras moléculas também devem participar no fornecimento de energia para a formação da ligação. O ATP, o principal fornecedor de energia, será discutido no final deste capítulo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Defina *orgânico*. **2-6**
- ✓ Adicione o(s) grupo(s) funcional(is) apropriado(s) ao grupo etil abaixo para produzir os seguintes compostos: etanol, ácido acético, acetaldeído, etanolamina, dietil-éter. **2-7**

H—C(H)(H)—C(H)(H)—

Carboidratos

Os **carboidratos** são um grupo grande e diverso de compostos orgânicos, que inclui os açúcares e os amidos. Os carboidratos realizam uma série de importantes funções nos sistemas vivos. Por exemplo, um tipo de açúcar (desoxirribose) é um bloco construtivo do ácido desoxirribonucleico (DNA), a molécula que carrega informações hereditárias. Outros açúcares são necessários para a formação das paredes celulares. Os carboidratos simples são utilizados na síntese de aminoácidos e gorduras ou substâncias similares, que são usadas para construir as membranas celulares e outras estruturas. Os carboidratos macromoleculares funcionam como reservas alimentares. Contudo, a principal função dos carboidratos é fornecer combustível para as atividades celulares, sendo uma fonte imediata de energia.

(a) Síntese por desidratação

(b) Hidrólise

Glicose $C_6H_{12}O_6$ + Frutose $C_6H_{12}O_6$ ⇌ Sacarose $C_{12}H_{22}O_{11}$ + Água (H_2O)

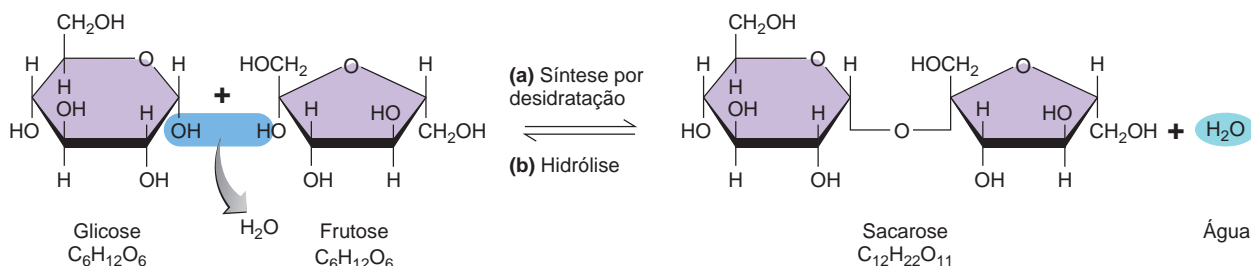



Figura 2.8 Síntese por desidratação e hidrolise. (a) Na síntese por desidratação (da esquerda para a direita), os monossacarídeos glicose e frutose se combinam para formar a molécula do dissacarídeo sacarose. Uma molécula de água é liberada na reação. **(b)** Na hidrólise (da direita para a esquerda), a molécula de sacarose é quebrada nas moléculas menores glicose e frutose. Para que a reação de hidrólise ocorra, deve ser adicionada água à sacarose.

P Qual a diferença entre um polímero e um monômero?

Os carboidratos são constituídos de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio. A relação entre os átomos de hidrogênio e oxigênio é sempre 2:1 nos carboidratos simples. Essa relação pode ser observada nas fórmulas dos carboidratos ribose ($C_5H_{10}O_5$), glicose ($C_6H_{12}O_6$) e sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Embora existam exceções, a fórmula geral dos carboidratos é $(CH_2O)_n$, onde *n* indica que há três ou mais unidades CH_2O. Os carboidratos podem ser classificados em três grupos principais, com base no tamanho: monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos.

Monossacarídeos

Os açúcares simples são denominados **monossacarídeos** (*sacchar* = açúcar); cada molécula contém de três a sete átomos carbono. O número de átomos de carbono na molécula de um açúcar simples é indicado pelo prefixo em seu nome. Por exemplo, os açúcares simples com três carbonos são chamados de trioses. Existem também as tetroses (açúcares com quatro carbonos), pentoses (açúcares com cinco carbonos), hexoses (açúcares com seis carbonos) e heptoses (açúcares com sete carbonos). As pentoses e as hexoses são extremamente importantes para os organismos vivos. A desoxirribose é uma pentose encontrada no DNA. A glicose, uma hexose muito comum, é a principal molécula fornecedora de energia das células vivas.

Dissacarídeos

Os **dissacarídeos** (*di* = dois) são formados quando dois monossacarídeos ligam-se em uma reação de síntese por desidratação.* Por exemplo, as moléculas de dois monossacarídeos, glicose e frutose, combinam-se para formar uma molécula do dissacarídeo sacarose (açúcar de mesa) e uma molécula de água (veja a Figura 2.8a). De maneira similar, a síntese por desidratação dos monossacarídeos glicose e galactose forma o dissacarídeo lactose (açúcar do leite).

Pode parecer estranho que a glicose e a frutose tenham a mesma fórmula química (veja a Figura 2.8), embora sejam dois monossacarídeos diferentes. As posições dos oxigênios e dos carbonos diferem nas duas moléculas diferentes e, consequentemente, as moléculas têm propriedades físicas e químicas diferentes. Duas moléculas com a mesma fórmula química, mas estruturas e propriedades diferentes são denominadas **isômeros** (*iso* = idêntico).

Os dissacarídeos podem ser quebrados em moléculas mais simples e menores quando se adiciona água. Essa reação química, o inverso da síntese por desidratação, é chamada de **hidrólise** (*hydro* = água; *lysis* = liberar) (**Figura 2.8b**). Uma molécula de sacarose, por exemplo, pode ser hidrolisada (digerida) em seus componentes glicose e frutose, reagindo com H^+ e OH^- da água.

Como você verá no Capítulo 4, as paredes celulares das células bacterianas são compostas de dissacarídeos e proteínas (denominadas em conjunto de peptideoglicano).

Polissacarídeos

Os carboidratos do terceiro grupo principal, os **polissacarídeos**, consistem em dezenas ou centenas de monossacarídeos unidos através da síntese por desidratação. Os polissacarídeos frequentemente possuem cadeias laterais ramificando-se a partir da estrutura principal e são classificados como macromoléculas. Como os dissacarídeos, os polissacarídeos podem ser divididos por hidrólise em seus açúcares constituintes. Contudo, ao contrário dos monossacarídeos e dissacarídeos, eles não apresentam o poder adoçante de açúcares como a frutose e a sacarose e, em geral, não são solúveis em água.

Um polissacarídeo importante é o *glicogênio*, que é constituído de subunidades de glicose e é sintetizado como material de armazenamento por animais e algumas bactérias. A *celulose,* outro polímero importante, é o principal componente das paredes celulares

* Carboidratos compostos por 2 a 20 monossacarídeos são denominados **oligossacarídeos** (*oligo* = alguns). Dissacarídeos são os oligossacarídeos mais comuns.

das plantas e da maioria das algas. Embora a celulose seja um dos carboidratos mais abundantes na Terra, somente pode ser digerida por alguns poucos organismos que possuem a enzima adequada. O polissacarídeo *dextrana*, que é produzido como um líquido açucarado por certas bactérias, é utilizado como substituto do plasma sanguíneo. A *quitina* é um polissacarídeo que constitui parte da parede celular da maioria dos fungos e o exoesqueleto das lagostas, dos caranguejos e dos insetos. O *amido* é um polímero da glicose produzido pelas plantas e usado como alimento por seres humanos.

Muitos animais, inclusive os seres humanos, produzem enzimas denominadas *amilases*, que podem quebrar as ligações entre as moléculas de glicose no glicogênio. Contudo, essa enzima não pode quebrar as ligações na celulose. Bactérias e fungos que produzem enzimas chamadas de *celulases* podem digerir a celulose. As celulases do fungo *Trichoderma* são utilizadas para uma série de fins industriais. Uma das utilizações mais incomuns é a produção de tecido jeans do tipo *stone-washed*. Uma vez que a lavagem do tecido com pedras poderia danificar as máquinas de lavagem, a celulase é utilizada para digerir e, portanto, amaciar o algodão. (veja o quadro no Capítulo 1, página 3).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Dê um exemplo de um monossacarídeo, de um dissacarídeo e de um polissacarídeo. **2-8**

Lipídeos

Se os lipídeos desaparecessem da Terra, todas as células vivas entrariam em colapso, se transformando em uma poça de líquido, pois os lipídeos são essenciais para a estrutura e a função das membranas que separam as células vivas do seu ambiente. Os **lipídeos** (*lip* = gordura) são o segundo maior grupo de compostos orgânicos encontrados na matéria viva. Como os carboidratos, eles são constituídos de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio, mas os lipídeos não apresentam a relação 2:1 entre os átomos de hidrogênio e oxigênio. Embora os lipídeos sejam um grupo muito diverso de compostos, compartilham uma característica comum: eles são moléculas *apolares*. Ao contrário da água, eles não apresentam uma extremidade positiva e uma negativa (polo). Assim, a maioria dos lipídeos é insolúvel em água, mas eles se dissolvem facilmente em solventes apolares, como o éter e o clorofórmio. Os lipídeos participam na estrutura das membranas e de algumas paredes celulares e atuam no armazenamento de energia.

Lipídeos simples

Os *lipídeos simples*, chamados de *gorduras* ou *triglicerídeos*, contêm um álcool chamado de *glicerol* e um grupo de compostos conhecidos como *ácidos graxos*. As moléculas de glicerol têm três átomos de carbono aos quais estão fixados três grupos hidroxila (—OH) (**Figura 2.9a**). Os ácidos graxos consistem em longas cadeias de hidrocarbonetos (constituídas somente de carbono e hidrogênio) terminando em um grupo carboxila (—COOH, ácido orgânico) (**Figura 2.9b**). Os ácidos graxos mais comuns contêm um número par de átomos de carbono.

Uma molécula de gordura é formada quando uma molécula de glicerol se combina com uma a três moléculas de ácidos graxos. O número de moléculas de ácido graxo determina se a molécula de gordura é um monoglicerídeo, um diglicerídeo ou um triglicerídeo (**Figura 2.9c**). Na reação, de uma a três moléculas de água são formadas (desidratação), dependendo do número de moléculas de ácido graxo que estão reagindo. A ligação química formada em que uma molécula de água é removida é denominada *ligação éster.* Na reação inversa, hidrólise, a molécula de gordura é quebrada nas suas moléculas constituintes de ácido graxo e glicerol.

Como os ácidos graxos que formam os lipídeos têm estruturas diferentes, existe uma grande variedade de lipídeos. Por exemplo, três moléculas do ácido graxo A podem combinar-se com a molécula de glicerol, ou uma molécula de cada dos ácidos graxos A, B e C pode se unir com a molécula de glicerol (veja a Figura 2.9c).

A função primária dos lipídeos é formar as membranas plasmáticas que recobrem as células. A membrana plasmática sustenta a célula e permite aos nutrientes e resíduos entrar e sair; assim, os lipídeos devem manter a mesma viscosidade, independentemente da temperatura ambiente. A membrana deve ser tão viscosa como o azeite de oliva, sem ficar muito líquida quando aquecida ou muito espessa quando resfriada. Como todos que já cozinharam uma refeição sabem, as gorduras animais (como a manteiga) normalmente são sólidas em temperatura ambiente, enquanto os óleos vegetais em geral são líquidos nessa temperatura. A diferença em seus pontos de fusão respectivos é devida aos graus de saturação das cadeias de ácidos graxos. Um ácido graxo é chamado de *saturado* quando não tem ligações duplas; nesse caso, o esqueleto de carbono contém o seu número máximo de átomos de hidrogênio (veja a Figura 2.9c e a **Figura 2.10a**). As cadeias saturadas solidificam com facilidade, pois são mais lineares e, portanto, podem ser mais empacotadas que as cadeias insaturadas. As ligações duplas das cadeias *insaturadas* criam dobraduras na cadeia, que afastam as cadeias umas das outras (**Figura 2.10b**). Observe na Figura 2.9c que os átomos de H de cada lado da ligação dupla no ácido oleico estão do mesmo lado do ácido graxo insaturado. Esse ácido graxo insaturado é chamado de ácido graxo *cis.* Ao contrário, se os átomos de H estão em lados opostos da ligação dupla, o ácido graxo é chamado de *trans*.

Lipídeos complexos

Os *lipídeos complexos* contêm elementos como o fósforo, o nitrogênio e o enxofre, além do carbono, do hidrogênio e do oxigênio encontrados em lipídeos simples. Os lipídeos complexos chamados de *fosfolipídeos* são constituídos de glicerol, dois ácidos graxos e, no lugar do terceiro ácido graxo, um grupo fosfato ligado a um ou vários grupos orgânicos (veja a Figura 2.10a). Os fosfolipídeos são os lipídeos que compõem as membranas; eles são essenciais para a sobrevivência da célula. Os fosfolipídeos têm regiões polares e apolares (Figura 2.10a e b; veja também a Figura 4.13, na página 86). Quando colocadas em água, as moléculas de fosfolipídeos se dobram de tal maneira que todas as porções polares (hidrofílicas) se orientam em direção às moléculas de água, com as quais elas formam pontes de hidrogênio. (Lembre-se de que *hidrofílico* significa amigo da água.) Isto forma a estrutura básica da membrana plasmática (**Figura 2.10c**). As porções polares consistem de um grupo fosfato e de glicerol. Em contraste com as

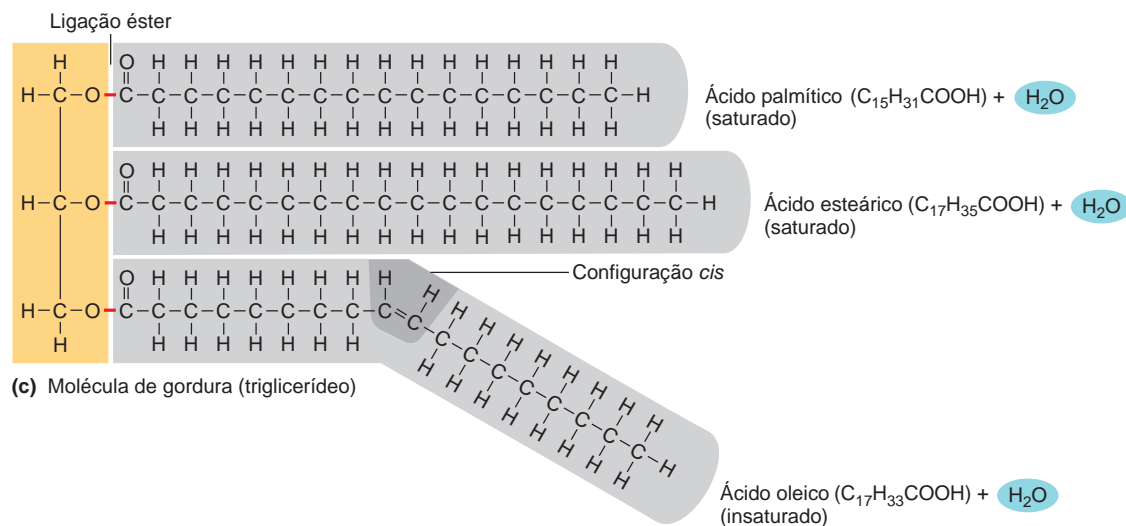
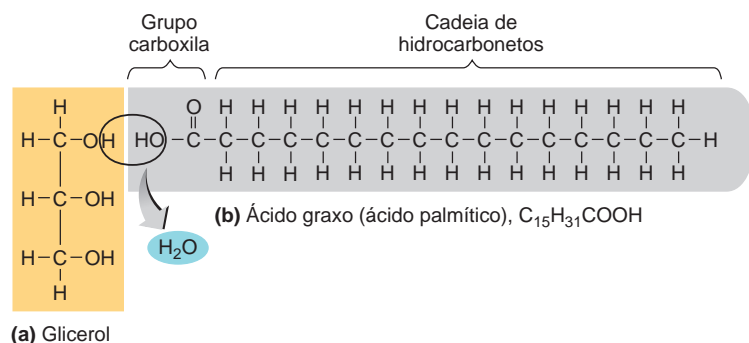



Figura 2.9 Fórmulas estruturais dos lipídeos simples. **(a)** Glicerol. **(b)** Ácido palmítico, um ácido graxo saturado. **(c)** A combinação química de uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos (palmítico, esteárico e oleico neste exemplo) forma uma molécula de gordura (triglicerídeo) e três moléculas de água, em uma reação de síntese por desidratação. O ácido oleico é um ácido *cis*. A ligação entre o glicerol e cada ácido graxo é chamada de ligação éster. A adição de três moléculas de água a uma gordura forma glicerol e três moléculas de ácidos graxos em uma reação de hidrólise.

P Em que os ácidos graxos saturados e insaturados diferem?

regiões polares, todas as partes apolares (hidrofóbica) entram em contato com as porções apolares das moléculas vizinhas. (*Hidrofóbico* significa que teme a água.) As porções apolares consistem em ácidos graxos. Esse comportamento característico torna os fosfolipídeos particularmente adequados para seu papel como principal componente das membranas que envolvem as células. Os fosfolipídeos permitem que a membrana atue como uma barreira que separa o conteúdo da célula do ambiente aquoso no qual ela vive.

Alguns lipídeos complexos são úteis para identificar certas bactérias. Por exemplo, a parede celular de *Mycobacterium tuberculosis*, a bactéria que causa a tuberculose, é caracterizada por seu conteúdo rico em lipídeos. A parede celular contém lipídeos complexos como ceras e glicolipídeos (lipídeos com carboidratos ligados) que dão à bactéria características distintas de coloração. As paredes celulares ricas nesses lipídeos complexos são características de todos os membros do gênero *Mycobacterium*.

Esteroides

Os **esteroides** são muito diferentes estruturalmente dos lipídeos. A **Figura 2.11** mostra a estrutura do esteroide colesterol, com os quatro anéis de carbono interconectados que são característicos dos esteroides. Quando um grupo —OH é ligado a um dos anéis, o esteroide é denominado *esterol* (um álcool). Os esteróis são constituintes importantes das membranas plasmáticas das células animais e de um grupo de bactérias (micoplasma), sendo também encontrados em fungos e plantas. Os esteróis separam as cadeias dos ácidos graxos, e assim impedem o empacotamento que poderia endurecer a membrana plasmática em baixas temperaturas (veja a Figura 2.10C).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Em que os lipídeos simples diferem dos lipídeos complexos? **2-9**

Proteínas

As **proteínas** são moléculas orgânicas que contêm carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Algumas também contêm enxofre. Se você pudesse separar e pesar todos os grupos de compostos orgânicos em uma célula viva, as proteínas seriam as mais pesadas. Centenas de proteínas diferentes podem ser encontradas em uma única célula e juntas elas constituem 50% ou mais do peso seco de uma célula.

As proteínas são ingredientes essenciais em todos os aspectos da estrutura e função celulares. As *enzimas* são as proteínas que aceleram as reações químicas. Contudo, as proteínas também têm outras funções. As *proteínas transportadoras* auxiliam no transporte de certos compostos químicos para dentro e para fora das células. Outras proteínas, como as *bacteriocinas* produ-

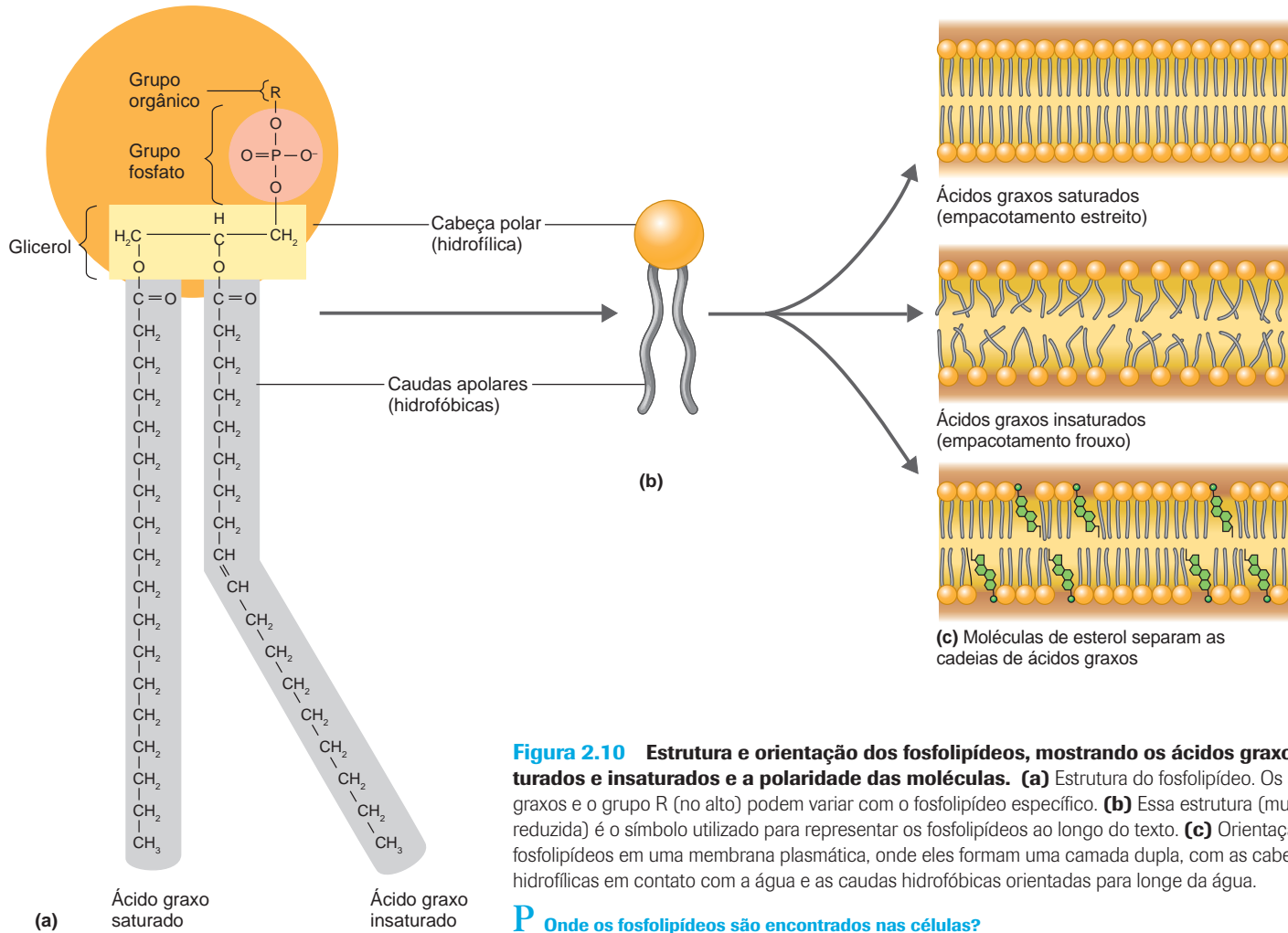



Figura 2.10 Estrutura e orientação dos fosfolipídeos, mostrando os ácidos graxos saturados e insaturados e a polaridade das moléculas. (a) Estrutura do fosfolipídeo. Os ácidos graxos e o grupo R (no alto) podem variar com o fosfolipídeo específico. **(b)** Essa estrutura (muito reduzida) é o símbolo utilizado para representar os fosfolipídeos ao longo do texto. **(c)** Orientação dos fosfolipídeos em uma membrana plasmática, onde eles formam uma camada dupla, com as cabeças hidrofílicas em contato com a água e as caudas hidrofóbicas orientadas para longe da água.

P Onde os fosfolipídeos são encontrados nas células?

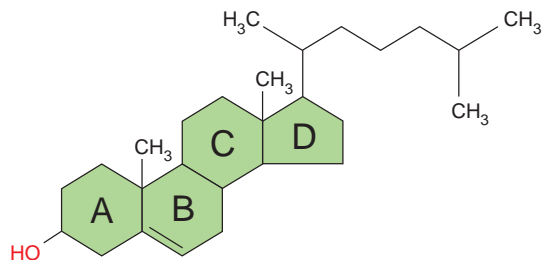



Figura 2.11 Colesterol, um esteroide. Observe os quatro anéis de carbono "fundidos" (designados A-D), que são característicos das moléculas de esteroides. Os átomos de hidrogênio ligados aos carbonos nos cantos dos anéis foram omitidos. O grupo —OH (na cor vermelha) torna essa molécula um esterol.

P Onde os esteróis são encontrados nas células?

zidas por muitas bactérias, matam outras bactérias. Certas *toxinas*, denominadas *exotoxinas*, produzidas por certos microrganismos causadores de doença também são proteínas. Algumas proteínas participam da *contração* das células musculares animais e do *movimento* de células microbianas ou de outros tipos. Outras proteínas são partes integrantes das *estruturas celulares*, como as paredes, as membranas e os componentes citoplasmáticos. Ainda outras, como os *hormônios* de certos organismos, têm funções reguladoras. Como veremos no Capítulo 17, as proteínas chamadas de *anticorpos* desempenham um papel no sistema imune dos vertebrados.

Aminoácidos

Assim como os monossacarídeos são os blocos construtivos de moléculas de carboidratos maiores, e os ácidos graxos e o glicerol são os blocos construtivos das gorduras, os **aminoácidos** são os blocos construtivos das proteínas. Os aminoácidos contêm pelo menos um grupo carboxila (—COOH) e um grupo amino (—NH_2) fixados no mesmo átomo de carbono, denominado carbono alfa (representado como C_α) (**Figura 2.12a**). Esses aminoácidos são denominados *ami-*

noácidos alfa. Também fixado ao carbono alfa há um grupo lateral (grupo R), que é a característica distintiva do aminoácido. O grupo lateral pode ser um átomo de hidrogênio, uma cadeia linear ou ramificada de átomos ou uma estrutura em anel que pode ser cíclica (toda de carbono) ou heterocíclica (quando um átomo diferente do carbono está incluído no anel). A **Figura 2.12b** mostra a fórmula estrutural da tirosina, um aminoácido que possui um grupo lateral cíclico. O grupo lateral pode conter grupos funcionais, como o grupo sulfidrila (—SH), o grupo hidroxila (—OH), ou grupos carboxila ou amino adicionais. Esses grupos laterais e os grupos carboxila e alfa-amino afetam a estrutura total de uma proteína, o que será descrito posteriormente. As estruturas e abreviações dos 20 aminoácidos encontrados nas proteínas são mostradas na **Tabela 2.4**.

A maioria dos aminoácidos existe em uma de duas configurações, denominadas **estereoisômeros**, designados como D e L. Essas configurações são imagens espelhadas, correspondendo às formas tridimensionais "destrógira" (D) e "levógira" (L) do aminoácido (**Figura 2.13**). Os aminoácidos encontrados nas proteínas são sempre isômeros L (exceto pela glicina, o aminoácido mais simples, que não tem estereoisômeros). Contudo, aminoácidos da forma D ocorrem ocasionalmente na natureza – por exemplo, em certas paredes celulares bacterianas e antibióticos. (Muitos outros tipos de moléculas também podem existir nas formas D e L. Um exemplo é o açúcar glicose, que ocorre na natureza como D-glicose.)

Embora apenas 20 aminoácidos diferentes ocorram naturalmente nas proteínas, uma única molécula de proteína pode conter de 50 a centenas de moléculas de aminoácidos, que podem ser combinados em um número quase infinito de formas para produzir proteínas de comprimentos, composições e estruturas diferentes. O número de proteínas é praticamente infinito, e todas as células vivas produzem muitas proteínas diferentes.

Figura 2.13 Os isômeros L e D de um aminoácido, mostrados como modelos tridimensionais de esferas e hastes. Os dois isômeros, assim como as mãos esquerda e direita, são imagens espelhadas um do outro e não podem ser superpostos. (Tente!)

P Qual isômero é encontrado sempre nas proteínas?

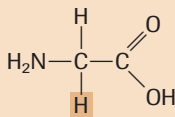
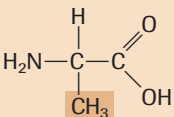
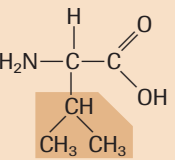
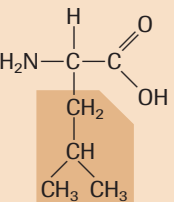
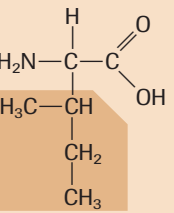
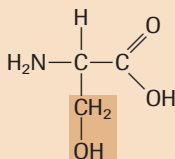
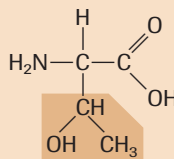
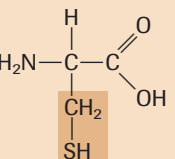
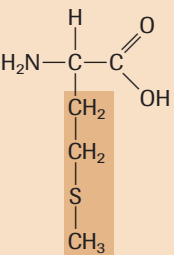
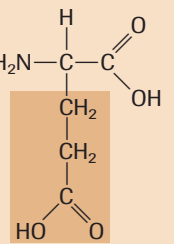
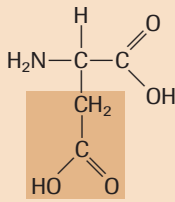
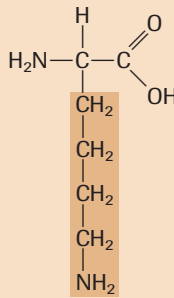
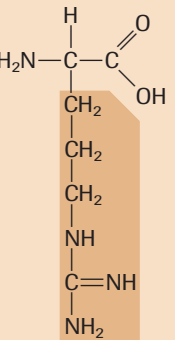
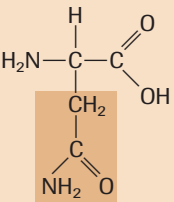
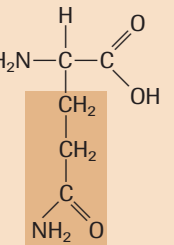
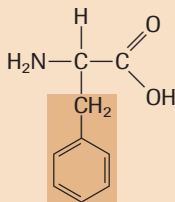
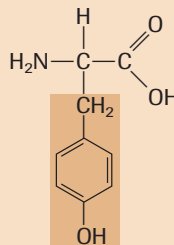
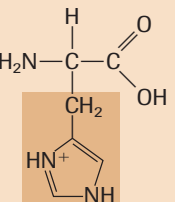
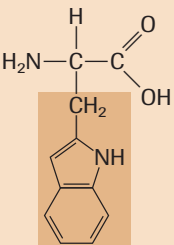
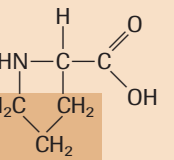
Ligações peptídicas

Os aminoácidos formam ligações entre o átomo de carbono do grupo carboxila (—COOH) de um aminoácido e o átomo de nitrogênio do grupo amino (—NH_2) de outro (**Figura 2.14**). As ligações entre os aminoácidos são chamadas de **ligações peptídicas**. Para cada ligação peptídica formada entre dois aminoácidos, uma molécula de água é liberada; portanto, as ligações peptídicas são formadas por síntese por desidratação. Na Figura 2.14, o composto resultante é chamado de *dipeptídeo*, pois consiste em dois aminoácidos unidos por uma ligação peptídica. A adição de outro aminoácido a um dipeptídeo formaria um *tripeptídeo*. Adições subsequentes de aminoácidos produziriam uma molécula longa, em cadeia, chamada de *peptídeo* (de 4 a 9 aminoácidos) ou *polipeptídio* (10 a 2.000 aminoácidos).

Figura 2.12 Estrutura de um aminoácido. (a) A fórmula estrutural geral para um aminoácido. O carbono alfa (C_α) é mostrado no centro. Aminoácidos diferentes têm grupos R diferentes, também denominados grupos laterais. **(b)** Fórmula estrutural do aminoácido tirosina, que possui um grupo lateral cíclico.

P O que diferencia um aminoácido do outro?

Níveis de estrutura das proteínas

As proteínas variam extremamente em sua estrutura. Diferentes proteínas têm diferentes arquiteturas e diferentes conformações tridimensionais. Essa variação na estrutura está diretamente relacionada às suas diversas funções.

Quando a célula produz uma proteína, a cadeia polipeptídica dobra-se de forma espontânea para assumir certa conformação. Uma razão para o polipeptídeo se dobrar é que certas partes de

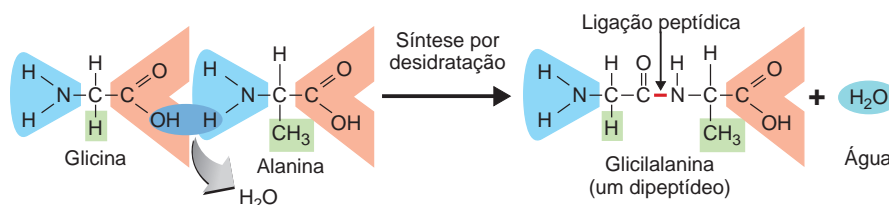
Tabela 2.4 Os 20 aminoácidos encontrados nas proteínas*

Aminoácido	Grupo R	Grupo R característico
Glicina (Gly)	H	Átomo de hidrogênio
Alanina (Ala)	CH_3	Cadeia linear
Valina (Val)	$CH(CH_3)CH_3$	Cadeia ramificada
Leucina (Leu)	$CH_2—CH(CH_3)CH_3$	Cadeia ramificada
Isoleucina (Ile)	$H_3C—CH—CH_2—CH_3$	Cadeia ramificada
Serina (Ser)	$CH_2—OH$	Grupo hidroxila (—OH)
Treonina (Thr)	$CH(OH)CH_3$	Grupo hidroxila (—OH)
Cisteína (Cys)	$CH_2—SH$	Grupo contendo enxofre (—SH)
Metionina (Met)	$CH_2—CH_2—S—CH_3$	Grupo tioéter (SC)
Ácido glutâmico (Glu)	$CH_2—CH_2—C(=O)—OH$	Grupo carboxila adicional (—COOH), ácido
Ácido aspártico (Asp)	$CH_2—C(=O)—OH$	Grupo carboxila (—COOH) adicional, ácido
Lisina (Lys)	$CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—NH_2$	Grupo amino adicional (—NH_2), básico
Arginina (Arg)	$CH_2—CH_2—CH_2—NH—C(=NH)—NH_2$	Grupo amino adicional (—NH_2), básico
Asparagina (Asn)	$CH_2—C(=O)—NH_2$	Grupo amino adicional (—NH_2), básico
Glutamina (Gln)	$CH_2—CH_2—C(=O)—NH_2$	Grupo amino adicional (—NH_2), básico
Fenilalanina (Phe)	CH_2—anel benzênico	Cíclico
Tirosina (Tyr)	CH_2—anel benzênico—OH	Cíclico
Histidina (His)	CH_2—anel imidazol (HN^+, NH)	Heterocíclico
Triptofano (Trp)	CH_2—anel indol (NH)	Heterocíclico
Prolina (Pro)	HN—C—C; $H_2C—CH_2—CH_2$ (anel)	Heterocíclico

Estrutura geral (exceto prolina): $H_2N—C(H)(R)—C(=O)—OH$

*São mostrados os nomes dos aminoácidos, incluindo a abreviação de três letras, entre parênteses (acima), suas fórmulas estruturais (centro) e grupo R característico (abaixo). Observe que a cisteína e a metionina são os únicos aminoácidos que contêm enxofre.

Figura 2.14 Formação da ligação peptídica por síntese por desidratação. Os aminoácidos glicina e alanina se combinam para formar um dipeptídeo. A nova ligação entre o átomo de carbono da glicina e o átomo de nitrogênio da alanina é chamada de ligação peptídica.

P Como os aminoácidos são relacionados com as proteínas?

uma proteína são atraídas pela água e outras partes são repelidas por ela. Em praticamente todos os casos, a função de uma proteína depende da sua capacidade de reconhecer e se ligar a alguma outra molécula. Por exemplo, uma enzima liga-se especificamente a seu substrato. Uma proteína hormonal liga-se a um receptor em uma célula cuja função ela irá alterar. Um anticorpo liga-se a um antígeno (substância estranha) que invadiu o corpo. A conformação única de cada proteína permite que ela interaja com outra molécula específica, de modo a realizar funções específicas.

As proteínas são descritas em termos de quatro níveis de organização: primário, secundário, terciário e quaternário. A *estrutura primária* é a sequência única na qual os aminoácidos são unidos para formar a cadeia polipeptídica (**Figura 2.15a**). Essa sequência é determinada geneticamente. Alterações na sequência podem ter efeitos metabólicos profundos. Por exemplo, um único aminoácido incorreto em uma proteína do sangue pode produzir a deformação da estrutura da hemoglobina, característica da anemia falciforme. Contudo, as proteínas não existem somente como cadeias longas e lineares. Cada cadeia polipeptídica dobra-se e curva-se em formas específicas, em uma estrutura relativamente compacta, com uma conformação tridimensional característica.

A *estrutura secundária* de uma proteína é o dobramento localizado e repetitivo da cadeia polipeptídica. Esse aspecto da conformação da proteína resulta de pontes de hidrogênio que unem os átomos das ligações peptídicas em diferentes localizações ao longo da cadeia polipeptídica. Os dois tipos de estruturas secundárias das proteínas são espirais em sentido horário chamadas de *hélices* e *dobras pregueadas*, que se formam a partir de porções quase paralelas da cadeia (**Figura 2.15b**). Ambas as estruturas são unidas por pontes de hidrogênio entre os átomos de oxigênio e nitrogênio que fazem parte do esqueleto polipeptídico.

A *estrutura terciária* refere-se à estrutura tridimensional geral da cadeia polipeptídica (**Figura 2.15c**). O dobramento não é repetitivo ou previsível, como em uma estrutura secundária. Enquanto a estrutura secundária envolve pontes de hidrogênio entre os átomos dos grupos amino e carboxila envolvidos nas ligações peptídicas, a estrutura terciária envolve diversas interações entre vários grupos laterais de aminoácidos na cadeia polipeptídica. Por exemplo, os aminoácidos com grupos laterais apolares (hidrofóbicos) geralmente interagem no centro da proteína, longe do contato com a água. Essa *interação hidrofóbica* contribui para a estrutura terciária. As pontes de hidrogênio entre os grupos laterais e as ligações iônicas entre grupos laterais de carga oposta também contribuem para a estrutura terciária. As proteínas que contêm o aminoácido cisteína formam ligações covalentes fortes chamadas de *pontes dissulfeto*. Essas pontes se formam quando duas moléculas de cisteína são unidas pelo dobramento da proteína. As moléculas de cisteína contêm grupos sulfidrila (—SH), e o enxofre de uma molécula de cisteína liga-se ao enxofre de outra, formando (por remoção dos átomos de hidrogênio) uma ponte dissulfeto (S—S) que une as partes da proteína.

Algumas proteínas têm uma *estrutura quaternária*, que consiste em uma agregação de duas ou mais cadeias polipeptídicas (subunidades), que operam como uma unidade funcional única. A **Figura 2.15d** mostra uma proteína hipotética consistindo de duas cadeias polipeptídicas. Mais comumente, as proteínas têm dois ou mais tipos de subunidades polipeptídicas. As ligações que mantêm a estrutura quaternária são basicamente as mesmas que mantêm a estrutura terciária. A forma geral de uma proteína pode ser globular (compacta e quase esférica) ou fibrosa (em forma de fio).

Se uma proteína se encontra em um ambiente hostil em termos de temperatura, pH ou concentrações de sal, ela pode desenrolar-se e perder a sua forma característica. Esse processo é denominado **desnaturação** (veja a Figura 5.6, página 119). Como resultado da desnaturação, a proteína não é mais funcional. Esse processo será discutido mais detalhadamente no Capítulo 5, em relação à desnaturação das enzimas.

P&R As proteínas que já discutimos são *proteínas simples*, que contêm somente aminoácidos. As *proteínas conjugadas* são combinações de aminoácidos com outros componentes orgânicos ou inorgânicos. As proteínas conjugadas são denominadas de acordo com seu componente não aminoácido. Portanto, as glicoproteínas contêm açúcares, as nucleoproteínas contêm ácidos nucleicos, as metaloproteínas contêm átomos de metal, as lipoproteínas contêm lipídeos e as fosfoproteínas contêm grupos fosfato. As fosfoproteínas são importantes reguladores de atividades nas células eucarióticas. A síntese bacteriana das fosfoproteínas pode ser importante para a sobrevivência de bactérias como a *Legionella pneumophila*, que cresce dentro das células hospedeiras.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são os dois grupos funcionais presentes em todos os aminoácidos? **2-10**

Ácidos nucleicos

Em 1944, três microbiologistas norte-americanos – Oswald Avery, Colin MacLeod e Maclyn McCarty – descobriram que uma subs-

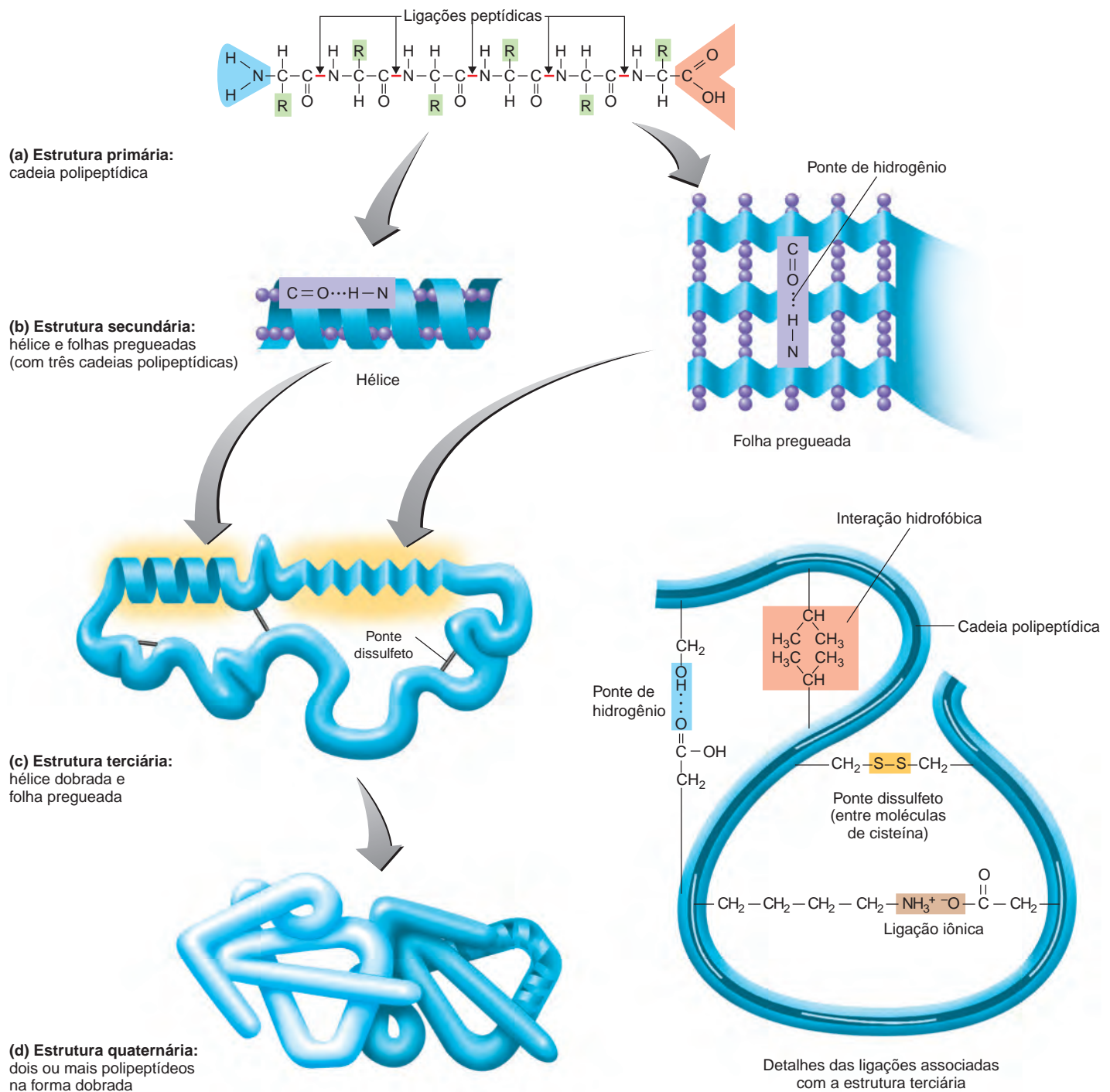



Figura 2.15 **Estrutura das proteínas.** **(a)** Estrutura primária, a sequência de aminoácidos. **(b)** Estruturas secundárias: a hélice e a folha pregueada. **(c)** Estrutura terciária, o dobramento tridimensional geral de uma cadeia polipeptídica. **(d)** Estrutura quaternária, as relações entre várias cadeias polipeptídicas que compõem a proteína. Aqui é mostrada a estrutura quaternária de uma proteína hipotética composta de duas cadeias polipeptídicas.

P **Qual é a propriedade de uma proteína que permite que ela realize funções específicas?**

tância chamada de **ácido desoxirribonucleico (DNA)** é a substância da qual os genes são feitos. Nove anos mais tarde, James Watson e Francis Crick, trabalhando com modelos moleculares e informações obtidas por análise com raios X fornecidas por Maurice Wilkins e Rosalind Franklin, identificaram a estrutura física do DNA. Além disso, Crick sugeriu um mecanismo para a replicação do DNA e como ele atua como material hereditário. O DNA e outra substância denominada **ácido ribonucleico (RNA)** são designados em conjunto como **ácidos nucleicos**, pois foram descobertos pela primeira vez nos núcleos das células. Assim como os aminoácidos são as unidades estruturais das proteínas, os nucleotídeos são as unidades estruturais dos ácidos nucleicos.

Cada **nucleotídeo** tem três partes: a base nitrogenada, uma pentose (açúcar de cinco carbonos) denominada **desoxirribose** ou **ribose** e um grupo fosfato (ácido fosfórico). As bases nitrogenadas são compostos cíclicos feitos de átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. As bases são denominadas adenina (A), timina (T), citosina (C), guanina (G) e uracila (U). A e G são estruturas de anel duplo chamadas de **purinas**, enquanto T, C e U são estruturas de anel simples denominadas **pirimidinas**.

Os ácidos nucleicos são denominados de acordo com sua base nitrogenada. Portanto, um nucleotídeo contendo timina é um *nucleotídeo timina*, um contendo adenina é um *nucleotídeo adenina*, e assim por diante. O termo **nucleosídeo** refere-se a uma combinação de purina ou pirimidina mais um açúcar pentose; ele não contém um grupo fosfato.

DNA

De acordo com o modelo proposto por Watson e Crick, a molécula de DNA consiste em duas cadeias longas enoveladas uma em torno da outra para formar uma **dupla hélice** (**Figura 2.16**). A dupla hélice parece, assim, uma escada em espiral, e cada corrimão é composto de inúmeros nucleotídeos.

Cada fita de DNA que compõe a dupla hélice possui um "esqueleto" consistindo do açúcar desoxirribose e de grupos fosfato alternados. A desoxirribose de um nucleotídeo está unida ao grupo fosfato do seguinte. (Veja na Figura 8.3, página 214, como os nucleotídeos estão ligados.) As bases nitrogenadas compõem os degraus da escada. Note que a purina A é sempre pareada com a pirimidina T, e que a purina G é sempre pareada com a pirimidina C. As bases são mantidas juntas por pontes de hidrogênio; A e T são unidas por duas pontes de hidrogênio, e G e C são unidas por três. O DNA não contém uracila (U).

A ordem em que os pares de bases nitrogenadas ocorrem ao longo do esqueleto é extremamente específica e, de fato, contém as instruções genéticas para o organismo. Os nucleotídeos formam os genes, e uma única molécula de DNA pode conter milhares de genes. Os genes determinam todas as características hereditárias e controlam todas as atividades que ocorrem dentro da célula.

Uma consequência muito importante do pareamento de bases nitrogenadas é que, se a sequência de uma fita é conhecida, a sequência da outra também é. Por exemplo, se uma fita tem a sequência ... ATGC ... , a outra terá a sequência ... TACG ... Uma vez que a sequência de bases de uma fita é determinada pela sequência de bases da outra, as bases são denominadas *complementares*. A transferência real de informação torna-se possível devido à estrutura única do DNA, e será discutida posteriormente no Capítulo 8.

RNA

O RNA, o segundo principal tipo de ácido nucleico, difere do DNA em vários aspectos. Enquanto o DNA é uma fita dupla, o RNA normalmente é uma fita simples. O açúcar de cinco carbonos do nucleotídeo RNA é a ribose, que tem um átomo de oxigênio a mais que a desoxirribose. Além disso, uma das bases do RNA é a uracila (U) em vez da timina (**Figura 2.17**). As outras três bases (A, G, C) são as mesmas do DNA. Três tipos principais de RNA foram identificados nas células. Eles são denominados **RNA mensageiro (mRNA)**, **RNA ribossômico (rRNA)** e **RNA transportador (tRNA)**. Como veremos no Capítulo 8, cada tipo de RNA tem um papel específico na síntese das proteínas.

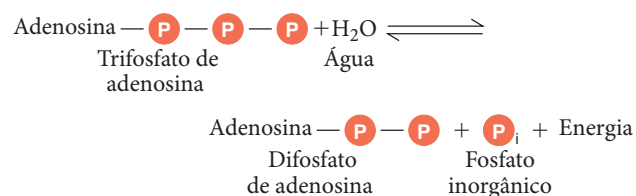
TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a estrutura do DNA? E do RNA? **2-11**

Trifosfato de adenosina (ATP)

O **trifosfato de adenosina (ATP)** é a principal molécula transportadora de energia de todas as células e é indispensável para a vida celular. Ele armazena a energia química liberada por algumas reações químicas e fornece energia para reações que requerem energia. O ATP consiste em uma unidade de adenosina, composta de adenina e ribose, com três grupos fosfato (abreviados como Ⓟ) ligados (**Figura 2.18**). Em outras palavras, é um nucleotídeo adenina (também chamado de monofosfato de adenosina, ou AMP) com dois grupos fosfato extras. O ATP também é chamado de molécula de alta energia, pois libera uma grande quantidade de energia utilizável quando o terceiro grupo fosfato é hidrolisado para se tornar **difosfato de adenosina (ADP)**. Essa reação pode ser representada como segue:

Adenosina — Ⓟ — Ⓟ — Ⓟ + H_2O ⇌
Trifosfato de adenosina; Água

Adenosina — Ⓟ — Ⓟ + $Ⓟ_i$ + Energia
Difosfato de adenosina; Fosfato inorgânico

O suprimento de ATP da célula em qualquer momento é limitado. Sempre que o suprimento necessita de reposição, a reação ocorre na direção inversa; a adição de um grupo fosfato ao ADP e a entrada de energia produzem mais ATP. A energia necessária para unir o grupo fosfato terminal ao ADP é fornecida pelas várias reações de oxidação da célula, particularmente pela oxidação da glicose. O ATP pode ser armazenado em todas as células, onde sua energia potencial não é liberada até ser necessária.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quem pode fornecer mais energia e por quê: ATP ou ADP? **2-12**

Figura 2.16

FIGURA FUNDAMENTAL A estrutura do DNA

Esta figura fornece uma visão geral da estrutura do DNA, uma molécula de fita dupla que armazena a informação genética em todas as células. A familiarização com a estrutura e a função do DNA é essencial para entender a genética, as técnicas de DNA recombinante e o surgimento da resistência a antibióticos e de novas doenças.

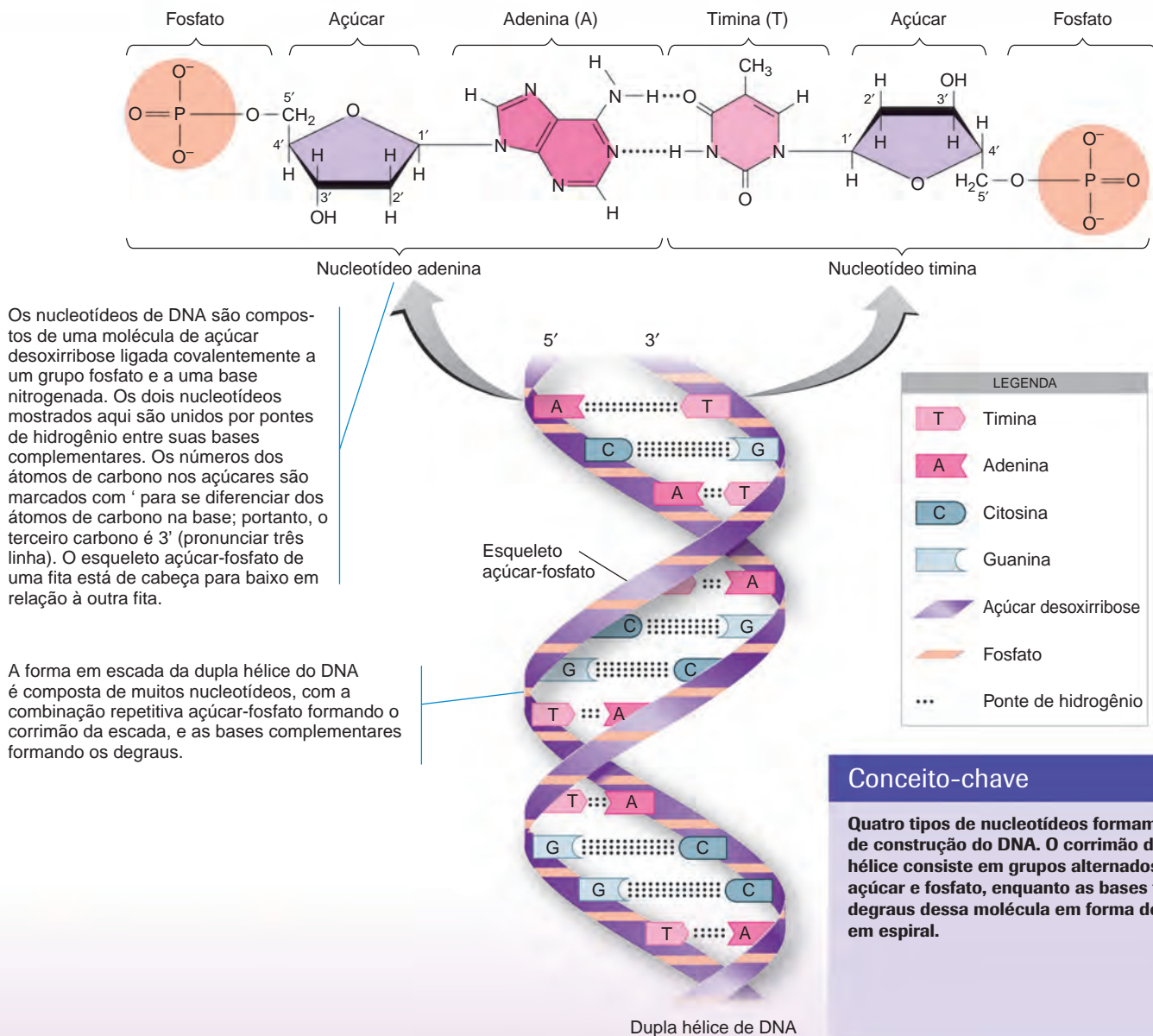
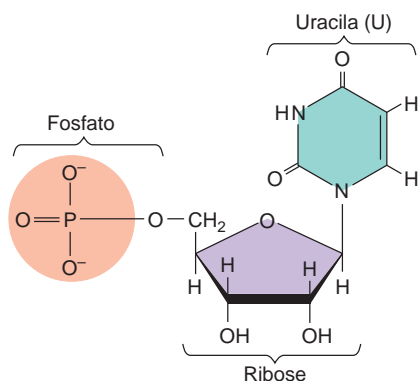



Figura 2.17 **Um nucleotídeo uracila do RNA.**

P **Em que aspecto o DNA e o RNA diferem em sua estrutura?**

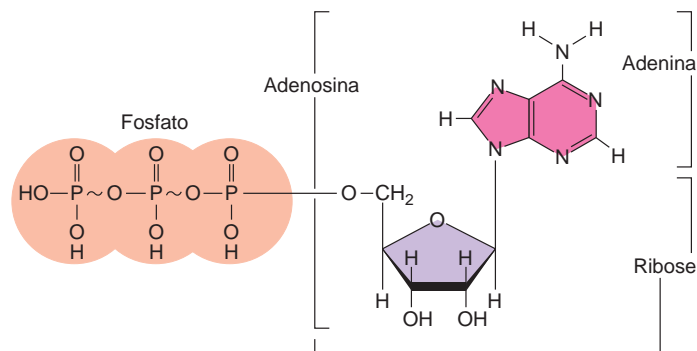



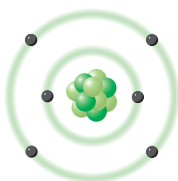
Figura 2.18 **A estrutura do ATP.** As ligações fosfato ricas em energia são indicadas por linhas onduladas. Quando o ATP se degrada em ADP e fosfato inorgânico, uma grande quantidade de energia é liberada para uso em outras reações químicas

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 26)

1. A ciência da interação entre os átomos e as moléculas é chamada de química.
2. As atividades metabólicas dos micro-organismos envolvem reações químicas complexas.
3. Os micro-organismos quebram os nutrientes para obter energia e para produzir novas células.

A estrutura dos átomos (p. 27, 28)

1. Os átomos são as menores unidades de um elemento químico que apresentam as propriedades do elemento.
2. Os átomos consistem de um núcleo, que contém prótons e nêutrons, e de elétrons que se movem ao redor do núcleo.
3. O número atômico é o número de prótons no núcleo; o número total de prótons e nêutrons é o peso atômico.

Elementos químicos (p. 27, 28)

4. Os átomos com o mesmo número de prótons e o mesmo comportamento químico são classificados como o mesmo elemento químico.
5. Os elementos químicos são designados por abreviações denominadas símbolos químicos.
6. Cerca de 26 elementos são encontrados comumente nas células vivas.
7. Os átomos que têm o mesmo número atômico (são do mesmo elemento), mas pesos atômicos diferentes, são chamados de isótopos.

Configurações eletrônicas (p. 28)

8. Em um átomo, os elétrons são distribuídos ao redor do núcleo em camadas eletrônicas.
9. Cada camada pode manter um número máximo característico de elétrons.
10. As propriedades químicas de um átomo são em grande parte o resultado do número de elétrons na sua camada mais externa.

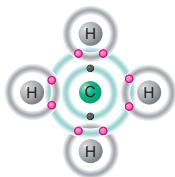
Como os átomos formam as moléculas: ligações químicas (p. 28-32)

1. As moléculas são compostas de dois ou mais átomos; as moléculas consistindo de pelo menos dois tipos diferentes de átomos são chamadas de compostos.
2. Os átomos formam moléculas para preencher suas camadas eletrônicas mais externas.
3. As forças de atração que ligam os núcleos atômicos de dois átomos são denominadas ligações químicas.
4. A capacidade de combinação de um átomo – o número de ligações químicas que o átomo pode formar com outros átomos – é sua valência.

Ligações iônicas (p. 28-30)

5. Um átomo ou um grupo de átomos carregados positiva ou negativamente é chamado de íon.
6. Uma atração química entre íons de carga oposta é chamada de ligação iônica.
7. Para formar uma ligação iônica, um íon é um doador de elétrons, e o outro íon é um aceptor de elétrons.

Ligações covalentes (p. 30, 31)

8. Em uma ligação covalente, os átomos compartilham pares de elétrons.
9. As ligações covalentes são mais fortes que as ligações iônicas, e são bem mais comuns nos organismos.

Pontes de hidrogênio (p. 31, 32)

10. Uma ponte de hidrogênio existe quando um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a um átomo de oxigênio ou nitrogênio é atraído por outro átomo de oxigênio ou nitrogênio.
11. As pontes de hidrogênio formam ligações fracas entre diferentes moléculas ou partes de uma mesma molécula grande.

Peso molecular e mol (p. 32)

12. O peso molecular é a soma dos pesos atômicos de todos os átomos em uma molécula.
13. Um mol de um átomo, íon ou molécula é igual a seu peso atômico ou molecular expresso em gramas.

Reações químicas (p. 32-34)

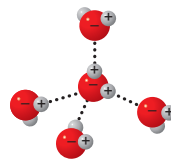
1. As reações químicas são a formação ou a quebra de ligações químicas entre os átomos.
2. Uma mudança de energia ocorre durante as reações químicas.
3. As reações endergônicas requerem mais energia do que liberam; as reações exergônicas liberam mais energia.
4. Em uma reação de síntese, átomos, íons ou moléculas são combinados para formar uma molécula maior.
5. Em uma reação de decomposição, uma molécula maior é quebrada em suas moléculas, íons ou átomos componentes.
6. Em uma reação de troca, duas moléculas são decompostas, e suas subunidades são utilizadas para sintetizar duas novas moléculas.
7. Os produtos de reações reversíveis podem ser facilmente revertidos para formar os reagentes originais.

MOLÉCULAS BIOLÓGICAS IMPORTANTES (p. 34-49)

Compostos inorgânicos (p. 34-37)

1. Os compostos inorgânicos normalmente são moléculas pequenas ligadas ionicamente.
2. A água e muitos ácidos, bases e sais comuns são exemplos de compostos inorgânicos.

Água (p. 34, 35)

3. A água é a substância mais abundante nas células.
4. Como a água é uma molécula polar, ela é um excelente solvente.
5. A água é um reagente em muitas reações de decomposição da digestão.
6. A água é um excelente tampão de temperatura.

Ácidos, bases e sais (p. 35)

7. Um ácido se dissocia em H^+ e ânions.
8. Uma base se dissocia em OH^- e cátions.
9. Um sal se dissocia em íons negativos e positivos, nenhum dos quais é H^+ ou OH^-.

Equilíbrio acidobásico: o conceito de pH (p. 35-37)

10. O termo pH refere-se à concentração de H^+ em uma solução.
11. Uma solução de pH 7 é neutra; um pH abaixo de 7 indica acidez; um pH acima de 7 indica alcalinidade.
12. O pH dentro de uma célula e em meio de cultura pode ser estabilizado com tampões de pH.

Compostos orgânicos (p. 37-49)

1. Os compostos orgânicos sempre contêm carbono e hidrogênio.
2. Os átomos de carbono formam até quatro ligações com outros átomos.
3. Os compostos orgânicos são principalmente ou inteiramente ligados de modo covalente, e muitos deles são moléculas grandes.

Estrutura e química (p. 37, 38)

4. Uma cadeia de átomos de carbono forma um esqueleto de carbono.
5. Os grupos funcionais dos átomos são responsáveis pela maioria das propriedades das moléculas orgânicas.
6. A letra R pode ser utilizada para representar o restante de uma molécula orgânica.
7. Classes de moléculas frequentemente encontradas são R—OH (alcoóis) e R—COOH (ácidos orgânicos).
8. As moléculas orgânicas pequenas podem combinar-se para formar moléculas muito grandes, chamadas de macromoléculas.
9. Os monômeros normalmente se unem por síntese por desidratação, ou reações de condensação, que formam água e um polímero.
10. As moléculas orgânicas podem ser quebradas por hidrólise, uma reação que envolve a separação das moléculas de água.

Carboidratos (p. 38-40)

11. Os carboidratos são compostos consistindo de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio, com hidrogênio e oxigênio em uma relação de 2:1.
12. Os carboidratos incluem os açúcares e os amidos.
13. Os carboidratos podem ser classificados como monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos.
14. Os monossacarídeos contêm de três e sete átomos de carbono.

15. Os isômeros são duas moléculas com a mesma fórmula química, mas com estruturas e propriedades diferentes – como exemplo, glicose ($C_6H_{12}O_6$) e frutose ($C_6H_{12}O_6$).

16. Os monossacarídeos podem formar dissacarídeos e polissacarídeos por síntese por desidratação.

Lipídeos (p. 40, 41)

17. Os lipídeos são um grupo de compostos variados que se distinguem por sua insolubilidade em água.

18. Os lipídeos simples (gorduras) consistem em uma molécula de glicerol e três moléculas de ácidos graxos.

19. Um lipídeo saturado não tem ligações duplas entre os átomos de carbono nos ácidos graxos; um lipídeo insaturado tem uma ou mais ligações duplas. Os lipídeos saturados têm um ponto de fusão maior que os lipídeos insaturados.

20. Os fosfolipídeos são lipídeos complexos consistindo de glicerol, dois ácidos graxos e um grupo fosfato.

21. Os esteroides têm estruturas de anel de carbono; os esteróis têm um grupo funcional hidroxila.

Proteínas (p. 42-45)

22. Os aminoácidos são os blocos construtivos das proteínas.

23. Os aminoácidos consistem em carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e algumas vezes enxofre.

24. Vinte aminoácidos ocorrem naturalmente nas proteínas.

25. Ao unirem os aminoácidos, as ligações peptídicas (formadas por síntese por desidratação) permitem a formação das cadeias polipeptídicas.

26. As proteínas têm quatro níveis de estrutura: primária (sequência de aminoácidos), secundária (hélices e folhas pregueadas), terciária (estrutura tridimensional geral de um polipeptídeo) e quaternária (duas ou mais cadeias polipeptídicas).

27. As proteínas conjugadas consistem em aminoácidos combinados com outros compostos orgânicos ou inorgânicos.

Ácidos nucleicos (p. 45-47)

28. Os ácidos nucleicos – DNA e RNA – são macromoléculas consistindo de nucleotídeos repetidos.

29. Um nucleotídeo é composto de uma pentose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada. Um nucleosídeo é composto de uma pentose e uma base nitrogenada.

30. O nucleotídeo DNA consiste em desoxirribose (uma pentose) e uma das seguintes bases nitrogenadas: timina ou citosina (pirimidinas) ou adenina ou guanina (purinas).

31. O DNA consiste em duas fitas de nucleotídeos enroladas em uma hélice dupla. As fitas são unidas por pontes de hidrogênio entre os nucleotídeos purina e pirimidina: AT e GC.

32. Os genes consistem em sequências de nucleotídeos.

33. Um nucleotídeo RNA consiste em uma ribose (uma pentose) e uma das seguintes bases nitrogenadas: citosina, guanina, adenina ou uracila.

Trifosfato de adenosina (ATP) (p. 47-49)

34. O ATP armazena energia química para várias atividades celulares.

35. Quando a ligação do grupo fosfato terminal do ATP é hidrolisada, a energia é liberada.

36. A energia das reações de oxidação é utilizada para regenerar ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico.

QUESTÕES PARA ESTUDO

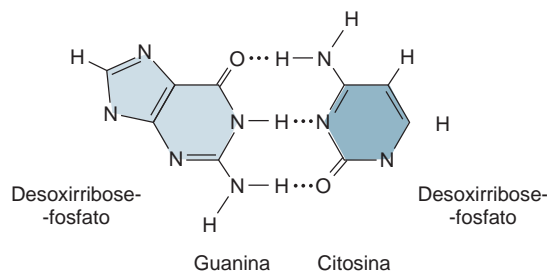
As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

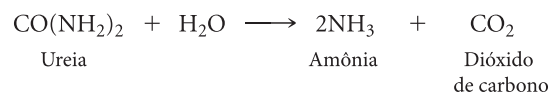
1. O que é um elemento químico?

2. DESENHE Esquematize a configuração eletrônica de um átomo de carbono.

3. Que tipo de ligação une os seguintes átomos?
- **a.** Li^+ e Cl^- em LiCL.
- **b.** Os átomos de carbono e oxigênio no metanol.
- **c.** Os átomos de oxigênio no O_2.
- **d.** Um átomo de hidrogênio de um nucleotídeo com um átomo de nitrogênio ou oxigênio de outro nucleotídeo em:

Desoxirribose-fosfato — Guanina — Citosina — Desoxirribose-fosfato

4. Classifique os seguintes tipos de reações químicas.
- **a.** Glicose + frutose $\rightarrow$ sacarose + H_2O.
- **b.** Lactose + $H_2O \rightarrow$ glicose + galactose.
- **c.** $NH_4Cl + H_2O \rightarrow NH_4OH + HCl$.
- **d.** ATP $\rightarrow$ ADP + P_i.

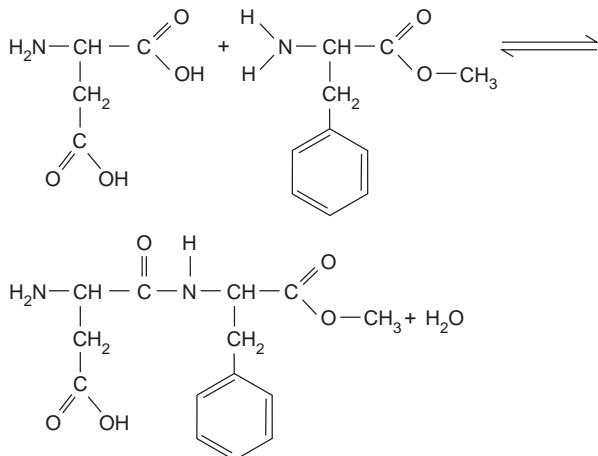
5. As bactérias utilizam a enzima urease para obter nitrogênio em uma forma que elas possam utilizar na reação seguinte:

$$\underset{\text{Ureia}}{CO(NH_2)_2} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{Amônia}}{2NH_3} + \underset{\text{Dióxido de carbono}}{CO_2}$$

Para que serve a enzima nessa reação? Que tipo de reação é essa?

6. Classifique os seguintes compostos como subunidades de um carboidrato, lipídeo, proteína ou ácido nucleico.
- **a.** $CH_3—(CH_2)_7—CH{=}CH—(CH_2)_7—COOH$
  Ácido oleico
- **b.** $H—C(NH_2)(CH_2OH)—COOH$
  Serina
- **c.** $C_6H_{12}O_6$.
- **d.** Nucleotídeo timina.

7. **DESENHE** O adoçante artificial aspartame, ou NutraSweet, é feito ao se juntar o ácido aspártico com a fenilalanina metilada, como mostrado abaixo:

$$H_2N-CH(CH_2-COOH)-C(=O)-OH \;+\; H_2N-CH(CH_2-C_6H_5)-C(=O)-O-CH_3 \;\rightleftharpoons$$

$$H_2N-CH(CH_2-COOH)-C(=O)-NH-CH(CH_2-C_6H_5)-C(=O)-O-CH_3 + H_2O$$

   a. Que tipos de moléculas são o ácido aspártico e a fenilalanina?
   b. Em que direção é a reação de hidrólise (da esquerda para a direita ou da direita para a esquerda)?
   c. Faça um círculo nos átomos envolvidos na formação da água.
   d. Identifique a ligação peptídica.

8. **DESENHE** O seguinte diagrama mostra a proteína bacteriorrodopsina. Indique as regiões de estrutura primária, secundária e terciária. Essa proteína tem uma estrutura quaternária?

9. **DESENHE** Desenhe um lipídeo simples e mostre como ele poderia ser modificado para um fosfolipídeo.

Múltipla escolha

Os radioisótopos são frequentemente usados para marcar moléculas em uma célula. O destino dos átomos e moléculas em uma célula pode ser então acompanhado. Esse método é a base das questões 1 a 3.

1. Imagine que *E. coli* seja cultivada em um meio nutriente contendo o radioisótopo ^{16}N. Após um período de 48 horas de incubação, os isótopos ^{16}N mais prováveis de se encontrar nas moléculas de *E. coli* são:
   a. Carboidratos.
   b. Lipídeos.
   c. Proteínas.
   d. Água.
   e. Nenhuma das alternativas.

2. Se bactérias *Pseudomonas* são supridas com citosina marcada radioativamente, após um período de incubação de 24 horas, em qual substância da célula a maioria dessa citosina deveria ser encontrada:
   a. Carboidratos.
   b. DNA.
   c. Lipídeos.
   d. Água.
   e. Proteínas.

3. Se a *E. coli* foi cultivada em um meio contendo o isótopo radioativo ^{32}P, o ^{32}P deveria ser encontrado em todas as seguintes moléculas da célula, *exceto*:
   a. ATP.
   b. Carboidratos.
   c. DNA.
   d. Membrana plasmática.
   e. Nenhuma das alternativas.

4. Uma bebida carbonatada, com pH 3, é _____ vezes mais ácida que a água destilada.
   a. 4.
   b. 10.
   c. 100.
   d. 1.000.
   e. 10.000.

5. Qual é a melhor definição de ATP?
   a. Uma molécula armazenada para uso alimentar.
   b. Uma molécula que fornece energia para efetuar trabalho.
   c. Uma molécula armazenada como reserva de energia.
   d. Uma molécula usada como fonte de fosfato.

6. Qual das seguintes é uma molécula orgânica?
   a. H_2O (água).
   b. O_2 (oxigênio).
   c. $C_{18}H_{29}SO_3$ (isopor).
   d. FeO (óxido de ferro).
   e. $F_2C=C_2F$ (teflon).

Classifique as moléculas mostradas nas questões 7 a 10 utilizando as seguintes opções.

7. $HNO_3 \rightarrow H^+ + NO_3^-$ — a. Ácido.
8. $H_2SO_4 \rightarrow 2H^+ + SO_4^{2-}$ — b. Base.
9. $NaOH \rightarrow Na^+ + OH^-$ — c. Sal.
10. $MgSO_4 \rightarrow Mg^{2+} + SO_4^{2-}$

Os produtos de dissociação das moléculas são mostrados para ajudá-lo.

Pensamento crítico

1. Quando você sopra bolhas em um copo de água, as seguintes reações ocorrem:

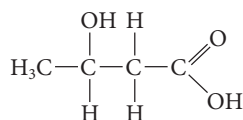
$$H_2O + CO_2 \xrightarrow{A} H_2CO_3 \xrightarrow{B} H^+ + HCO_3^-$$

   a. Que tipo de reação é A?
   b. O que a reação B sugere a você sobre o tipo de molécula que é H_2CO_3?

2. Quais são as características estruturais comuns das moléculas de ATP e DNA?
3. O que acontece com a quantidade relativa de lipídeos insaturados na membrana plasmática quando a *E. coli* cultivada em 25°C passa a ser cultivada em 37°C?
4. Girafas, cupins e coalas ingerem somente vegetais. Já que os animais não podem digerir celulose, como você supõe que esses animais conseguem se nutrir a partir das folhas e da madeira que eles ingerem?

Aplicações clínicas

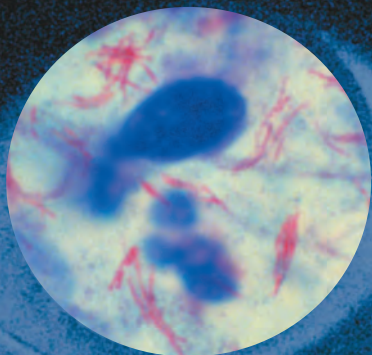
1. As bactérias *Ralstonia* produzem poli-β-hidroxibutirato (PHB), que é utilizado para fabricar plástico biodegradável. O PHB consiste em muitos dos monômeros mostrados a seguir. Que tipo de molécula é o PHB? Qual é a razão mais provável para uma célula armazenar essa molécula?

$$H_3C-\underset{H}{\overset{OH}{C}}-\underset{H}{\overset{H}{C}}-C\begin{matrix}{\!=O}\\{\!-OH}\end{matrix}$$

2. O *Thiobacillus ferrooxidans* foi responsável pela destruição de prédios no Oriente Médio ao causar alterações na terra. A rocha original, que continha carbonato de cálcio ($CaCO_3$) e pirita (FeS_2), expandiu-se à medida que o metabolismo bacteriano causava a formação de cristais de gipsita ($CaSO_4$). Como o *T. ferrooxidans* produz a alteração de carbonato de cálcio para gipsita?
3. Quando cresce em um animal, o *Bacillus anthracis* produz uma cápsula que é resistente à fagocitose. A cápsula é composta de ácido D-glutâmico. Por que essa cápsula é resistente à digestão pelos fagócitos do hospedeiro? (Os fagócitos são glóbulos brancos do sangue que destroem as bactérias.)
4. O antibiótico anfotericina B causa vazamento nas células combinando-se com esteróis da membrana plasmática. Você utilizaria anfotericina B contra uma infecção bacteriana? E contra uma infecção fúngica? Forneça uma razão pela qual a anfotericina B tem efeitos colaterais graves nos seres humanos.
5. Você pode sentir cheiro de enxofre quando ovos estão sendo fervidos. Quais aminoácidos você supõe estarem presentes no ovo?

3 Observando Micro-organismos Através do Microscópio

Os micro-organismos são pequenos demais para serem vistos a olho nu, devendo ser observados através de um microscópio. O termo *microscópio* é derivado da palavra em latim *micro*, que significa pequeno, e da palavra em grego *skopos*, olhar. Os microbiologistas modernos utilizam microscópios que produzem, com grande clareza, ampliações que são milhares de vezes maiores do que as da lente única de van Leeuwenhoek (veja a Figura 1.2b na página 7). Este capítulo descreve como funcionam os diferentes tipos de microscópios e por que um tipo pode ser utilizado preferencialmente a outro.

Alguns micróbios são mais facilmente observáveis que outros, devido ao seu tamanho maior ou a características. Muitos micróbios, entretanto, devem ser submetidos a vários procedimentos de coloração antes que suas paredes celulares, cápsulas e outras estruturas percam seu estado natural incolor. A última parte deste capítulo explica alguns dos métodos mais comumente utilizados na preparação de amostras para exame através de um microscópio óptico.

Você deve estar se perguntando como iremos classificar, contar e medir as amostras que serão estudadas. Para responder a essa pergunta, este capítulo inicia com uma discussão sobre como utilizar o sistema métrico para medir os micróbios.

SOB O MICROSCÓPIO

Mycobacterium tuberculosis é o agente causador da tuberculose.

P&R

A coloração resistente a álcool-ácido do escarro de um paciente é um método rápido, confiável e barato para diagnosticar a tuberculose. Com qual cor as células bacterianas aparecem se o paciente tiver tuberculose?

Procure pela resposta neste capítulo.

Unidades de medida

OBJETIVO DO APRENDIZADO

3-1 Listar as unidades métricas utilizadas para medir os micro-organismos.

Como os micro-organismos e seus componentes são muito pequenos, eles são medidos em unidades que não são familiares para muitos de nós em nossa vida diária. Quando medimos os micro-organismos, utilizamos o sistema métrico. A unidade-padrão de comprimento no sistema métrico é o metro (m). Uma grande vantagem do sistema métrico é que as unidades estão relacionadas umas às outras por fatores de 10. Desse modo, 1 m equivale a 10 decímetros (dm) ou 100 centímetros (cm) ou 1.000 milímetros (mm). As unidades do sistema de medida dos Estados Unidos não possuem a vantagem da fácil conversão por um único fator de 10. Por exemplo, os norte-americanos utilizam 3 pés ou 36 polegadas que equivalem a 1 jarda.

Os micro-organismos e seus componentes estruturais são medidos em unidades ainda menores, como os micrômetros e os nanômetros. Um **micrômetro (μm)** é igual a 0,000001 m (10^{-6} m). O prefixo *micro* indica que a unidade seguinte deve ser dividida por 1 milhão, ou 10^6 (veja a seção sobre Notação Exponencial no Apêndice B). **Um nanômetro (nm)** é igual a 0,000000001 m (10^{-9} m). Angström (Å) era usado antigamente para representar 10^{-10} m, ou 0,1 nm.

A **Tabela 3.1** apresenta as unidades métricas básicas de comprimento e alguns de seus equivalentes do sistema norte-americano. Na Tabela 3.1, você pode comparar as unidades microscópicas de medida com as unidades macroscópicas comumente conhecidas, como centímetros, metros e quilômetros. Se você examinar a Figura 3.2 na página 58, verá os tamanhos relativos de vários organismos na escala métrica.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Se um micróbio mede 10 μm de comprimento, o quanto isso é em nanômetros? **3-1**

Microscopia: os instrumentos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

3-2 Fazer um diagrama da trajetória da luz através de um microscópio composto.

3-3 Definir *ampliação total* e *resolução*.

3-4 Identificar um uso para as microscopias de campo escuro, de contraste de fase, de contraste por interferência diferencial, de fluorescência, confocal, de dois fótons e de varredura acústica, e compará-las com a iluminação de campo claro.

3-5 Explicar qual a diferença entre a microscopia eletrônica e a microscopia óptica.

3-6 Identificar um uso para os microscópios MET, MEV e o microscópio de varredura por sonda.

O microscópio simples utilizado por van Leeuwenhoek no século XVII possuía somente uma lente e era similar a uma lupa. Entretanto, van Leeuwenhoek foi o melhor polidor de lentes no mundo em sua época. Suas lentes eram polidas com tal precisão que uma única lente podia ampliar um micróbio em 300 vezes. Seus microscópios simples permitiram que ele fosse a primeira pessoa a ver as bactérias (veja a Figura 1.2, página 7).

Os contemporâneos de van Leeuwenhoek, como Robert Hooke, construíram microscópios compostos, que possuem múltiplas lentes. Na verdade, é creditada a um fabricante holandês de binóculos, Zaccharias Janssen, a produção do primeiro microscópio composto por volta de 1600. Entretanto, esses microscópios compostos iniciais eram de pouca qualidade e não podiam ser usados para se observar bactérias. Foi somente em 1830 que um microscópio significativamente melhor foi desenvolvido por Joseph Jackson Lister (o pai de Joseph Lister). Várias melhorias no microscópio de Lister resultaram no desenvolvimento do microscópio composto moderno, do tipo usado em laboratórios de microbiologia atualmente. Os estudos microscópicos de espécimes vivos revelaram interações dramáticas entre os micróbios (veja o quadro Aplicações da Microbiologia na página 57).

Tabela 3.1 Unidades métricas de comprimento e equivalentes dos Estados Unidos

Unidade métrica	Significado do prefixo	Equivalente métrico	Equivalente dos Estados Unidos
1 quilômetro (km)	*quilo* = 1.000	1.000 m = 10^3 m	3.280,84 pés ou 0,62 milhas; 1 milha = 1,61 km
1 metro (m)		Unidade-padrão de medida	39,37 polegadas ou 3,28 pés ou 1,09 jardas
1 decímetro (dm)	*deci* = 1/10	0,1 m = 10^{-1} m	3,94 polegadas
1 centímetro (cm)	*centi* = 1/100	0,01 m = 10^{-2} m	0,394 polegadas; 1 polegada = 2,54 cm
1 milímetro (mm)	*mili* = 1/1.000	0,001 m = 10^{-3} m	
1 micrômetro (μm)	*micro* = 1/1.000.000	0,000001 m = 10^{-6}	
1 nanômetro (nm)	*nano* = 1/1.000.000.000	0,000000001 m = 10^{-9} m	
1 picômetro (pm)	*pico* = 1/1.000.000.000.000	0,000000000001 m = 10^{-12} m	

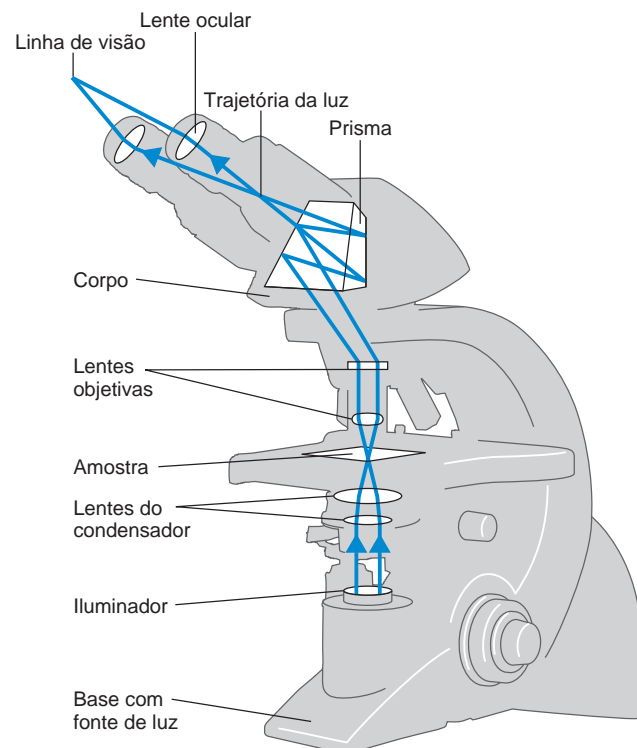
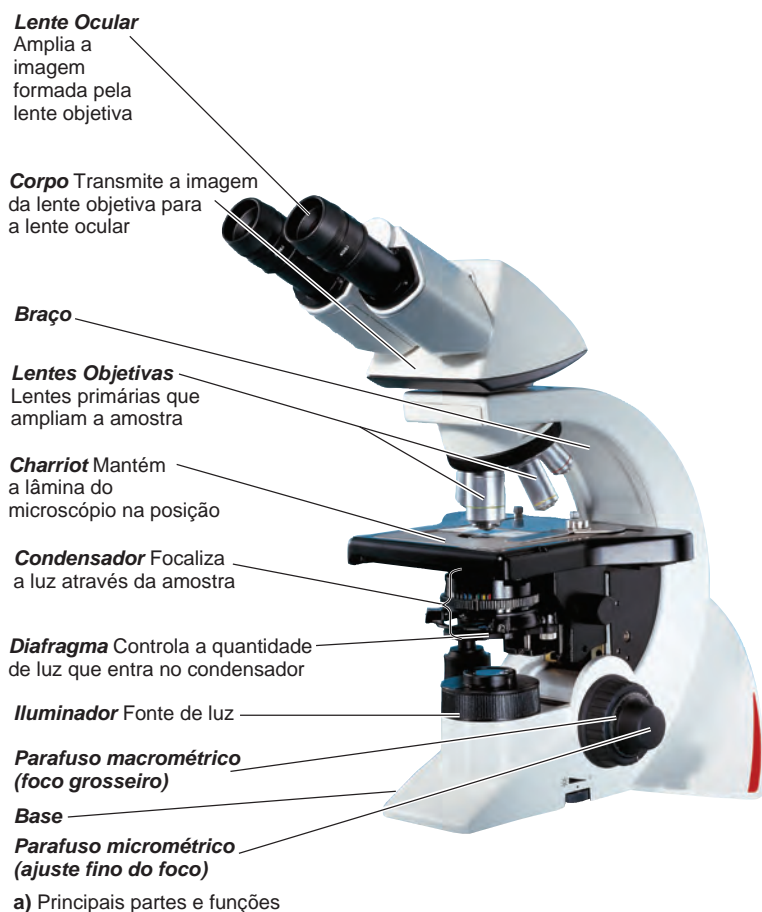



Figura 3.1 O microscópio óptico composto.

P Como é calculada a ampliação total de um microscópio óptico composto?

Microscopia óptica

Microscopia óptica refere-se ao uso de qualquer tipo de microscópio que utilize luz para observar amostras. Neste capítulo examinaremos vários tipos de microscopia óptica.

Microscopia óptica composta

Um **microscópio óptico composto (MO)** moderno possui uma série de lentes e utiliza a luz visível como fonte de iluminação (**Figura 3.1a**). Com um microscópio óptico composto, podemos examinar amostras muito pequenas, bem como parte de seus detalhes. Uma série de lentes finamente polidas (**Figura 3.1b**) forma uma imagem claramente focada, que é muitas vezes maior que a amostra em si. Essa ampliação é obtida quando os raios de luz de um **iluminador,** a fonte de luz, passam através de um **condensador**, que possui lentes que direcionam os raios de luz através da amostra. A seguir, os raios de luz passam para as **lentes objetivas**, as lentes mais próximas da amostra. A imagem da amostra é novamente ampliada pela **lente ocular.**

Podemos calcular a **ampliação total** de uma amostra multiplicando a ampliação (alcance) da lente objetiva pela ampliação (alcance) da lente ocular. A maior parte dos microscópios utilizados em microbiologia possui várias lentes objetivas, incluindo 10× (baixo alcance), 40× (alto alcance) e 100× (imersão em óleo, que será descrita em breve). A maioria das lentes oculares amplia as amostras por um fator de 10. Multiplicando-se a ampliação de uma lente objetiva específica pela ampliação da lente ocular, veremos que a ampliação total seria de 100× para as lentes de baixo alcance, 400× para as de alto alcance e 1.000× para a imersão em óleo. Alguns microscópios ópticos compostos podem alcançar uma ampliação de 2.000× com as lentes de imersão em óleo.

A **resolução** (também chamada de *potência de resolução*) é a capacidade das lentes de diferenciar detalhes e estruturas. Especificamente, refere-se à capacidade das lentes de diferenciar entre dois pontos separados a uma determinada distância. Por exemplo, se um microscópio possui uma potência de resolução de 0,4 nm, pode distinguir entre dois pontos se eles estiverem separados por uma distância de pelo menos 0,4 nm. Um princípio geral da microscopia é que, quanto mais curto o comprimento de onda da luz utilizada no instrumento, maior a resolução. A luz branca utilizada em um microscópio óptico composto possui um comprimento de onda relativamente longo e não pode determinar estruturas menores que 0,2 μm. Esse fato e outras considerações práticas limitam a amplia-

O que é este limo?

Quando as bactérias crescem, frequentemente permanecem juntas em grupos chamados de biofilmes. Isso pode resultar no filme viscoso encontrado em rochas, alimentos, dentro de tubos e em dispositivos médicos implantados. As células bacterianas interagem e exibem organização multicelular (**Figura A**).

Pseudomonas aeruginosa pode crescer dentro de um ser humano sem causar doença até formar um biofilme que ataca o sistema imune do hospedeiro. As bactérias *P. aeruginosa* formadoras de biofilme colonizam os pulmões de pacientes com fibrose cística e são uma das principais causas de morte nesses pacientes (**Figura B**). Talvez os biofilmes que causam doenças possam ser prevenidos por novas drogas que destroem o indutor (discutido em breve).

Mixobactérias

As mixobactérias são encontradas em material orgânico em decomposição e água doce em todo o mundo. Embora sejam bactérias, muitas nunca existem como células individuais. As células de *Myxococcus xanthus* parecem "caçar" em grupos. Em seu habitat aquoso natural, as células de *M. xanthus* formam colônias esféricas que cercam a "presa" (uma bactéria), onde podem secretar enzimas digestivas e absorver nutrientes. Em substratos sólidos, células de mixobactérias deslizam sobre uma superfície sólida, deixando rastros de muco que são seguidos por outras células. Quando a comida está escassa, as células se agregam para formar uma massa. As células no interior da massa se diferenciam em corpos de frutificação que consistem em pedúnculos mucosos e arranjos de esporos, como mostrado na **Figura C**.

Vibrio

Vibrio fischeri é uma bactéria bioluminescente que vive como um simbionte no órgão produtor de luz da lula e de certos peixes. Quando em vida livre, as bactérias encontram-se em baixa concentração e não emitem luz. Entretanto, quando crescem em seus hospedeiros, são encontradas em altas concentrações, e cada célula é induzida a produzir a enzima luciferase, usada na via química da bioluminescência.

Como funciona o comportamento de grupos bacterianos

A densidade celular altera a expressão de genes nas células bacterianas em um processo denominado *quorum sensing* (sensor de quorum). Na lei, um quorum representa o número mínimo de membros necessários para conduzir as negociações. O *quorum sensing* é a capacidade das bactérias de se comunicarem e coordenarem o comportamento. As bactérias que utilizam o *quorum sensing* produzem e secretam uma sinalização química denominada *indutor*. À medida que o indutor se difunde para o meio circundante, outras células bacterianas movimentam-se em direção à fonte e começam a produzir o indutor. A concentração do indutor aumenta de acordo com o aumento do número de células, que, por sua vez, atraem mais células e iniciam a síntese de mais indutor.

Figura A *Paenibacillus*. À medida que uma pequena colônia se afasta da colônia parental, outros grupos de células seguem a primeira colônia. Logo, todas as outras bactérias juntam-se ao deslocamento para formar essa colônia espiralada.

Figura B Biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*.

Figura C Um corpo de frutificação de uma mixobactéria.

10 μm
MEV

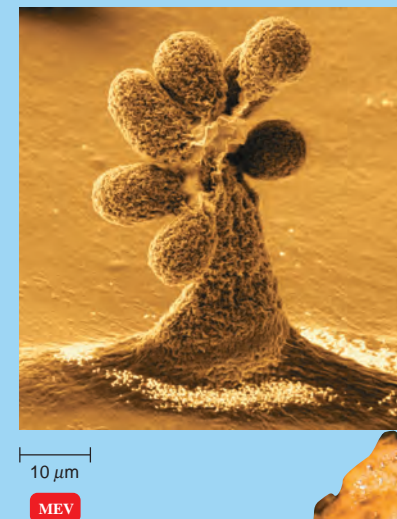
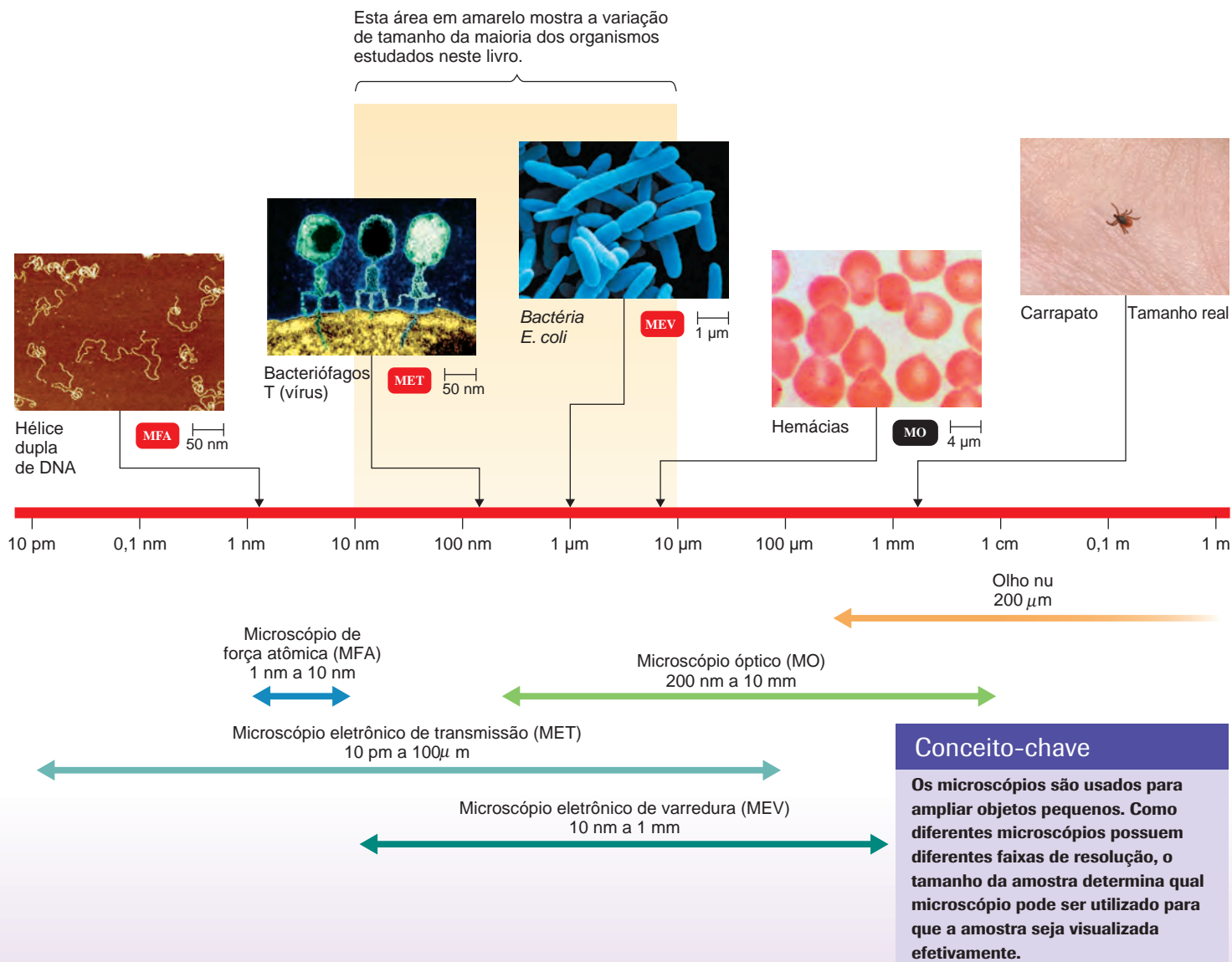



Figura 3.2

FIGURA FUNDAMENTAL Tamanhos e resoluções

Esta figura ilustra dois conceitos: 1) os tamanhos relativos de várias amostras, e 2) a resolução do olho humano e de diversos microscópios. As micrografias incluídas em todo o livro (como as apresentadas a seguir) apresentarão escalas de referência e símbolos para ajudá-lo a identificar o tamanho real da amostra e o tipo de microscópio utilizado na imagem. Um símbolo vermelho indica que a micrografia foi colorida artificialmente. Veja a Tabela 3.2 nas páginas 66 a 68 para mais explicações.

ção obtida até mesmo pelo melhor microscópio óptico composto a cerca de 2.000×. Comparando, os microscópios de van Leeuwenhoek possuíam uma resolução de 1 µm.

A **Figura 3.2** apresenta várias amostras que podem ser visualizadas pelo olho humano, pelo microscópio óptico e pelo microscópio eletrônico.

Para se obter uma imagem clara e finalmente detalhada em um microscópio óptico composto, as amostras devem ser preparadas para contrastarem nitidamente com o seu *meio* (substância na qual elas estão suspensas). Para atingir esse contraste, devemos alterar o índice de refração das amostras em relação ao índice de seu meio. O **índice de refração** é a medida da capacidade

de curvatura da luz em um meio. Alteramos o índice de refração das amostras por coloração, um procedimento que discutiremos em breve. Os raios de luz se movem em uma linha reta através de um meio único. Após a coloração, quando os raios de luz passam através dos dois materiais (a amostra e seu meio) com diferentes índices de refração, os raios mudam de direção (sofrem refração) a partir de uma linha reta, se curvando ou mudando o ângulo no limite entre os materiais, aumentando o contraste da imagem entre a amostra e o meio. À medida que os raios de luz seguem para longe das amostras, eles se espalham e entram na lente objetiva, e a imagem é assim ampliada.

Para alcançar uma alta ampliação (1.000×) com boa resolução, a lente objetiva deve ser pequena. Embora necessitemos que a luz percorra a amostra e o meio para ser refratada de modo diferente, não desejamos perder os raios de luz após a sua passagem através da amostra corada. Para preservar a direção dos raios de luz na maior ampliação, óleo de imersão é colocado entre a lâmina de vidro e a lente objetiva de imersão (**Figura 3.3**). O óleo de imersão possui o mesmo índice de refração que o vidro, e dessa forma torna-se parte da óptica do vidro do microscópio. A menos que o óleo de imersão seja utilizado, os raios de luz são refratados à medida que penetram no ar sobre a lâmina, e a lente objetiva precisaria ter um diâmetro maior para capturar a maior parte deles. O óleo possui o mesmo efeito que o aumento do diâmetro da lente objetiva; portanto, ele melhora a potência de resolução das lentes. Se o óleo não for usado com uma lente objetiva de imersão, a imagem torna-se borrada, com baixa resolução.

Sob condições normais de funcionamento, o campo de visão em um microscópio óptico composto é claramente iluminado. Ao focalizar a luz, o condensador produz uma **iluminação de campo claro** (**Figura 3.4a**).

Nem sempre é desejável corar uma amostra. Entretanto, uma célula não corada possui pouco contraste em relação a o que a cerca, sendo assim difícil de ser visualizada. Células não coradas são mais facilmente observadas com os microscópios compostos modificados descritos na próxima seção.

Figura 3.3 Refração no microscópio composto, utilizando uma lente objetiva em óleo de imersão. Como os índices de refração da lâmina de vidro e do óleo de imersão são os mesmos, os raios de luz não são refratados quando passam de um meio para o outro, quando uma lente objetiva em óleo de imersão é usada. Este método produz imagens com melhor resolução em ampliações maiores que 900×.

P O que significa *resolução*?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Através de quais lentes a luz passa em um microscópio composto? **3-2**

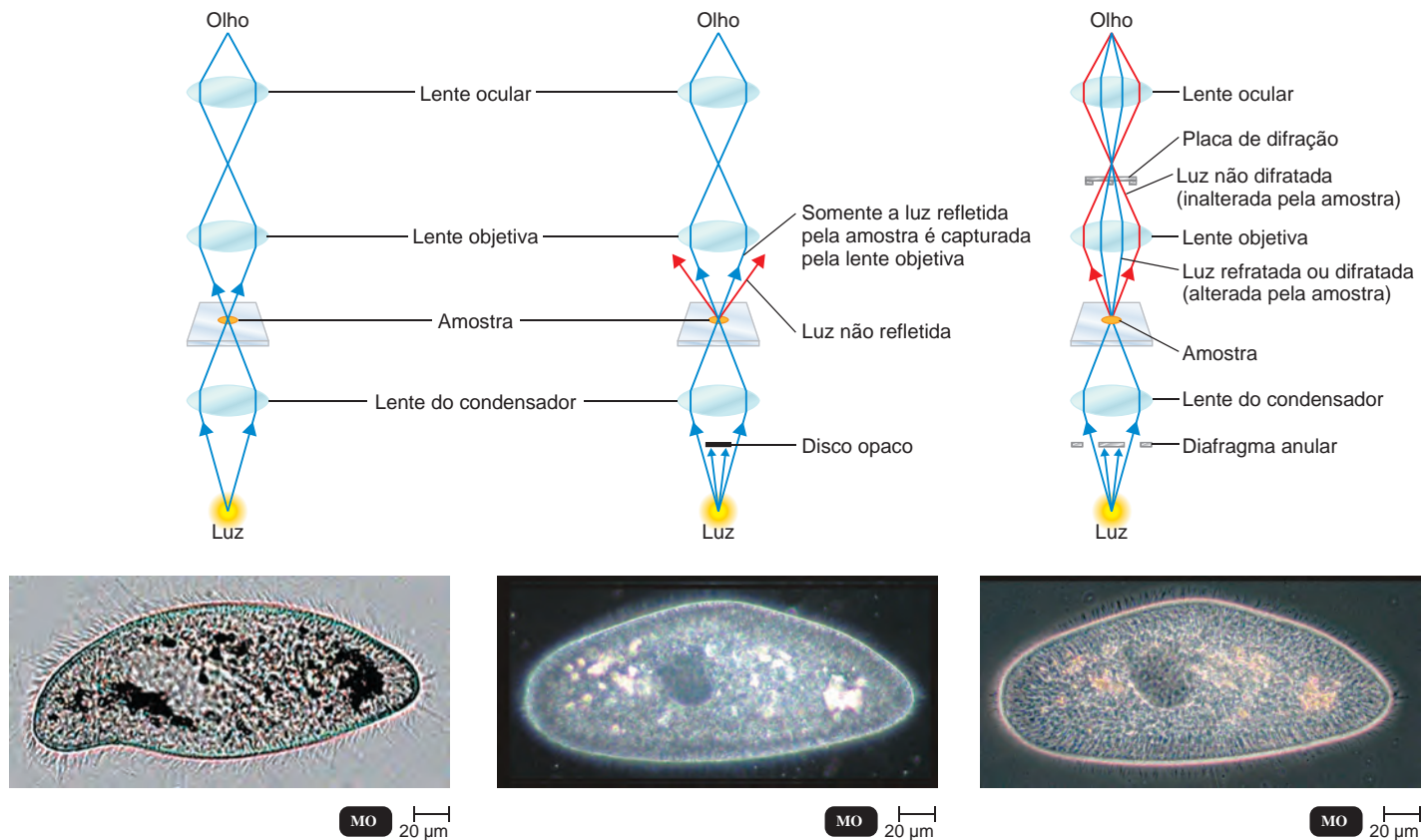
✔ O que significa quando o microscópio possui uma resolução de 0,2 nm? **3-3**

Microscopia de campo escuro

Um **microscópio de campo escuro** é utilizado para examinar micro-organismos vivos que são invisíveis ao microscópio óptico comum, que não podem ser corados por métodos-padrão ou que são tão distorcidos pela coloração que suas características não podem ser identificadas. Em vez do condensador normal, um microscópio de campo escuro utiliza um condensador de campo escuro, que contém um disco opaco. O disco bloqueia a luz que poderia entrar na lente objetiva diretamente. Somente a luz que é refletida para fora (devolvida) da amostra entra na lente objetiva. Uma vez que não há luz de fundo direta, a amostra aparece iluminada contra um fundo preto – o campo escuro (**Figura 3.4b**). Essa técnica é frequentemente utilizada para examinar micro-organismos não corados suspensos em líquido. Uma utilização da microscopia de campo escuro é o exame de espiroquetas muito finas, como o *Treponema pallidum*, o agente causador da sífilis.

Microscopia de contraste de fase

Outro modo de se observar micro-organismos é com um **microscópio de contraste de fase**. A microscopia de contraste de fase é especialmente útil, pois permite um exame detalhado das estruturas internas de micro-organismos *vivos*. Além disso, não é necessária a fixação (fixar os micróbios à lâmina do microscópio) ou a coloração da amostra – procedimentos que poderiam distorcer ou matar os micro-organismos.

O princípio da microscopia de contraste de fase baseia-se na natureza das ondas dos raios de luz e no fato de que os raios luminosos podem estar *em fase* (seus picos e vales combinam) ou *fora de fase*. Se o pico de onda dos raios luminosos de uma fonte coincide com o pico de onda da outra fonte, os raios interagem para produzir *reforço* (brilho relativo). Entretanto, se o pico de onda de uma fonte luminosa coincide com a parte inferior da onda de outra fonte de luz, os raios interagem para produzir *interferência* (escuridão relativa). Em um microscópio de contraste de fase, um conjunto de raios luminosos sai diretamente da fonte

a) Campo claro (No alto) A trajetória da luz na microscopia de campo claro e o tipo de iluminação produzida pelos microscópios ópticos compostos comuns. (Acima) A iluminação de campo claro mostra as estruturas internas e o contorno da película transparente (revestimento externo).

b) Campo escuro (No alto) O microscópio de campo escuro utiliza um condensador especial com um disco opaco que elimina toda a luz no centro do feixe. A única luz que atinge a amostra vem em ângulo; assim, somente a luz refletida pela amostra (raios azuis) alcança a lente objetiva. (Acima) Contra o fundo preto visto na microscopia de campo escuro, as bordas da célula estão brilhantes, algumas estruturas internas parecem brilhar e a película é quase visível.

c) Contraste de fase (No alto) Na microscopia de contraste de fase, a amostra é iluminada pela luz que passa através de um diafragma anular (em forma de anel). Os raios de luz diretos (inalterados pela amostra) percorrem uma trajetória diferente dos raios luminosos que são refletidos ou difratados à medida que passam através da amostra. Esses dois conjuntos de raios são combinados no olho. A luz refletida ou difratada é indicada em azul; os raios diretos estão em vermelho. (Acima) A microscopia de contraste de fase mostra uma diferenciação maior das estruturas internas e também mostra claramente a película.

Figura 3.4 **Microscopia de campo claro, campo escuro e contraste de fase.** As ilustrações mostram as diferentes trajetórias de luz de cada um desses tipos de microscopia. As fotografias comparam o mesmo espécime de *Paramecium* utilizando essas três diferentes técnicas de microscopia.

P **Quais são as vantagens da microscopia de campo claro, campo escuro e contraste de fase?**

de luz. O outro conjunto é derivado da luz que é refletida ou difratada de uma estrutura particular na amostra. (*Difração* é a dispersão dos raios luminosos quando eles "tocam" a borda de uma amostra. Os raios difratados são curvados para longe dos raios de luz paralelos que passam mais distante da amostra.) Quando os dois conjuntos de raios de luz – diretos e refletidos ou refratados – são reunidos, formam uma imagem da amostra na lente ocular, contendo áreas que são relativamente claras (em fase) e vários tons de cinza até a cor preta (fora de fase; **Figura 3.4c**). Na microscopia de contraste de fase, as estruturas internas de uma célula tornam-se mais bem definidas.

Microscopia de contraste com interferência diferencial

A **microscopia de contraste com interferência diferencial** (**CID**) é similar à microscopia de contraste de fase, pois utiliza as diferenças nos índices de refração. Entretanto, um microscópio CID utiliza dois feixes de luz em vez de um. Além disso, prismas separam cada feixe de luz, adicionando cores contrastantes à amostra. Assim, a resolução de um microscópio CID é maior que a de um microscópio de contraste de fase padrão. A imagem também apresenta cores brilhantes e parece quase tridimensional (**Figura 3.5**).

Figura 3.5 **Microscopia de contraste com interferência diferencial (CID).** Assim como no contraste de fase, a CID utiliza as diferenças nos índices de refração para produzir uma imagem, neste caso o protozoário *Paramecium*. As cores na imagem são produzidas por prismas que dividem os dois feixes de luz usados neste processo.

P **Por que a resolução de um microscópio CID é maior que a de um microscópio de contraste de fase?**

Microscopia de fluorescência

A **microscopia de fluorescência** vale-se da **fluorescência**, a capacidade das substâncias de absorver curtos comprimentos de ondas de luz (ultravioleta) e produzir luz em um comprimento de onda maior (visível). Alguns organismos fluorescem naturalmente sob iluminação ultravioleta; se a amostra que será visualizada não fluorescer naturalmente, ela pode ser corada com um grupo de corantes fluorescentes denominados *fluorocromos*. Quando os micro-organismos corados com um fluorocromo são examinados sob um microscópio de fluorescência, com uma fonte de luz ultravioleta ou próxima da ultravioleta, eles parecem luminosos, objetos brilhantes contra um fundo escuro.

Os fluorocromos possuem atrações especiais por diferentes micro-organismos. Por exemplo, o fluorocromo auramina O, que apresenta um brilho amarelo quando exposto à luz ultravioleta, é fortemente absorvido pelo *Mycobacterium tuberculosis*, a bactéria que causa a tuberculose. Quando o corante é aplicado a uma amostra de material com suspeita de conter a bactéria, esta pode ser detectada pelo surgimento de organismos amarelo-brilhantes contra um fundo escuro. O *Bacillus anthracis*, o agente causador do antraz, adquire cor verde-maçã quando corado com outro fluorocromo, o isotiocianato de fluoresceína (FITC).

O principal uso da microscopia de fluorescência é uma técnica diagnóstica denominada **técnica de anticorpo fluorescente (AF)** ou **imunofluorescência**. Os **anticorpos** são moléculas de defesa natural que são produzidas pelos seres humanos e muitos animais em reação a uma substância estranha, ou **antígeno**. Os anticorpos fluorescentes para um antígeno específico são obtidos da seguinte forma: um animal é injetado com um antígeno específico, como uma bactéria; o animal então começa a produzir anticorpos contra aquele antígeno. Após um período suficiente, os anticorpos são removidos do soro do animal. A seguir, como mostrado na **Figura 3.6a**, um fluorocromo é quimicamente combinado com os anticorpos. Esses anticorpos fluorescentes são então adicionados a uma

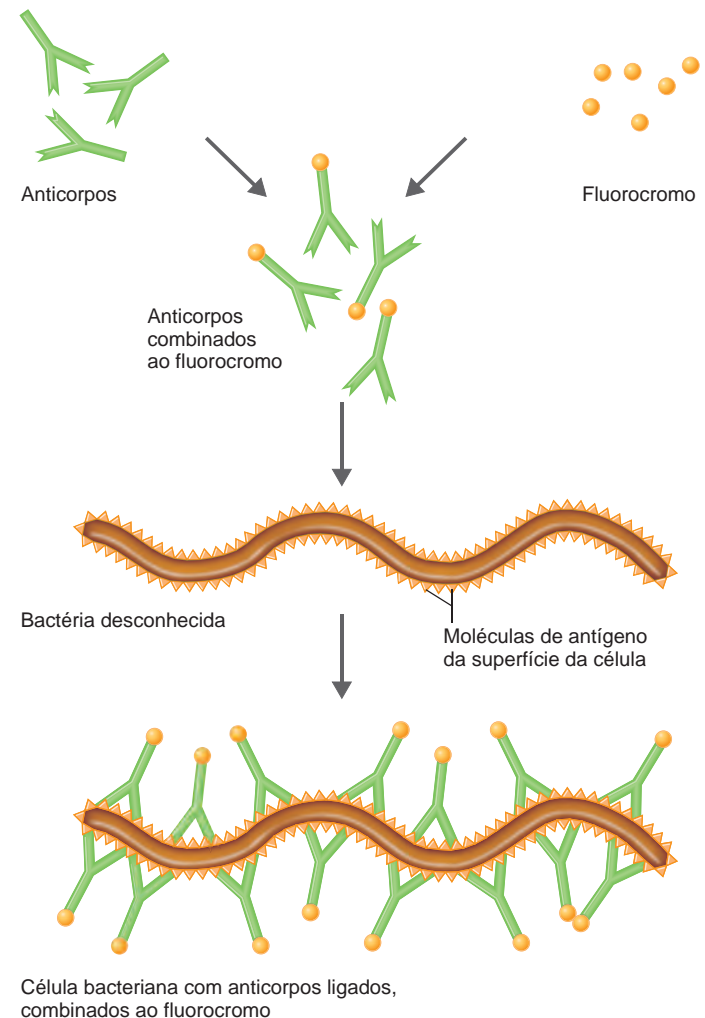
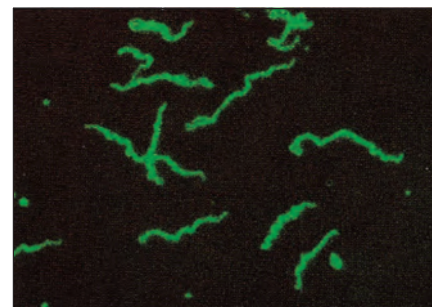



Figura 3.6 **O princípio da imunofluorescência.** **(a)** Um tipo de fluorocromo é combinado a anticorpos contra um tipo específico de bactéria. Quando a preparação é adicionada às células bacterianas em uma lâmina, os anticorpos se fixam às células bacterianas, e as células fluorescem quando iluminadas com luz ultravioleta. **(b)** No teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente (FTA-ABS) para a sífilis mostrado aqui, o *Treponema pallidum* é evidenciado como células verdes contra um fundo escuro.

P **Por que as outras bactérias não fluorescem no teste FTA-ABS?**

Figura 3.7 **Microscopia confocal.** A microscopia confocal produz imagens tridimensionais e pode ser usada para examinar o interior de células. Nesta figura são mostrados vacúolos contráteis no *Paramecium multimicronucleatum*.

P Que característica da microscopia confocal elimina o desfoque que ocorre com outros microscópios?

lâmina de microscópio contendo uma bactéria desconhecida. Se essa bactéria desconhecida for a mesma bactéria que foi injetada no animal, os anticorpos fluorescentes se ligarão aos antígenos na superfície da bactéria, fazendo com que ela fluoresça.

Essa técnica pode detectar bactérias e outros micro-organismos patogênicos, mesmo dentro de células, tecidos ou outras amostras clínicas (**Figura 3.6b**). Além disso, pode ser utilizada para identificar um micróbio em minutos. A imunofluorescência é especialmente útil no diagnóstico da sífilis e da raiva. Discutiremos mais sobre as reações antígeno-anticorpo e sobre imunofluorescência no Capítulo 18.

Microscopia confocal

Microscopia confocal é uma técnica na microscopia óptica utilizada para reconstruir imagens tridimensionais. Assim como na microscopia de fluorescência, as amostras são coradas com fluorocromos para que emitam, ou devolvam, a luz. Contudo, em vez da iluminação do campo todo, na microscopia confocal um plano de uma pequena região da amostra é iluminado com uma luz de pequeno comprimento de onda (azul), que passa a luz devolvida através de uma abertura alinhada com a região iluminada. Cada plano corresponde a uma imagem de um corte fino que foi fisicamente seccionado a partir de uma amostra. Os planos e as regiões sucessivos são iluminados até que toda a amostra tenha sido examinada. Uma vez que a microscopia confocal utiliza um orifício pequeno de abertura (*pinhole*), elimina o desfoque que ocorre com outros microscópios. Como resultado, imagens bidimensionais excepcionalmente claras podem ser obtidas, com uma resolução até 40% melhor que a dos outros microscópios.

A maioria dos microscópios confocais é utilizada em conjunto com computadores para construir imagens tridimensionais. Os planos examinados de uma amostra, que lembram um arquivo de imagens, são convertidos a um formato digital que pode ser utilizado por um computador para construir uma representação tridimensional. As imagens reconstruídas podem ser movidas e visualizadas em qualquer orientação. Essa técnica tem sido usada para obter imagens tridimensionais de células inteiras e de componentes celulares (**Figura 3.7**). Além disso, a microscopia confocal pode ser utilizada para avaliar a fisiologia celular, monitorando as distribuições e as concentrações de substâncias como o ATP e os íons cálcio.

Microscopia de dois fótons

Da mesma maneira que na microscopia confocal, na **microscopia de dois fótons (MDF)** as amostras são coradas com um fluorocromo. A microscopia de dois fótons utiliza uma luz de comprimento de onda longo (vermelha), e dessa forma dois fótons, em vez de um, são necessários para excitar o fluorocromo para emitir luz. O comprimento de onda mais longo permite a imagem de células vivas em tecidos de até 1 mm de espessura (**Figura 3.8**). A microscopia confocal pode formar imagens de células em detalhes somente a uma espessura menor que 100 μm. Além disso, o comprimento de onda mais longo tem menor probabilidade de formar o oxigênio singlet, que danifica as células (veja a página 161). Outra vantagem da MDF é que ela pode rastrear a atividade das células em tempo real. Por exemplo, células do sistema imune foram observadas respondendo a um antígeno.

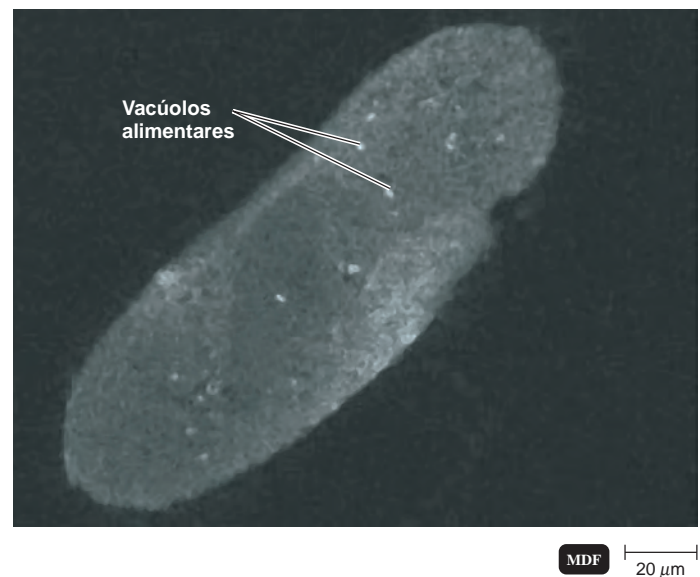



Figura 3.8 **Microscopia de dois fótons (MDF).** Esse procedimento torna possível a obtenção de imagens de células vivas de até 1 mm de espessura em detalhes. Esta imagem mostra o movimento dos vacúolos alimentares em um *Paramecium* vivo.

P Quais são as vantagens da MDF?

Microscopia acústica de varredura

A **microscopia acústica de varredura (MAV)** basicamente consiste em interpretar a ação de uma onda sonora enviada através de uma amostra. Uma onda sonora de uma frequência específica propaga-se através da amostra, e uma parte dessa onda é refletida de volta toda vez que atinge uma interface dentro do material. A resolução é de cerca de 1 μm. A MAV é usada para estudar células vivas aderidas a outra superfície, como células cancerígenas, placas ateroscleróticas e biofilmes bacterianos que obstruem equipamentos (Figura 3.9).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Em que as microscopias de campo claro, campo escuro, contraste de fase e fluorescência são similares? 3-4

Microscopia eletrônica

Objetos menores que 0,2 μm, como vírus ou estruturas internas das células, devem ser examinados com um **microscópio eletrônico**. Na microscopia eletrônica, um feixe de elétrons é usado ao invés da luz. Como a luz, os elétrons livres se deslocam em ondas. A potência de resolução do microscópio eletrônico é muito maior que a dos outros microscópios descritos até agora. A melhor resolução dos microscópios eletrônicos é devida aos comprimentos de onda mais curtos dos elétrons; os comprimentos de onda dos elétrons são cerca de 100 mil vezes menores que os comprimentos de onda da luz visível. Portanto, os microscópios eletrônicos são usados para examinar estruturas muito pequenas para serem determinadas com microscópios ópticos. As imagens produzidas por microscópios eletrônicos são sempre em preto e branco, mas podem ser coloridas artificialmente para acentuar certos detalhes.

Ao invés de usar lentes de vidro, um microscópio eletrônico utiliza lentes eletromagnéticas para focalizar um feixe de elétrons na amostra. Existem dois tipos de microscópios eletrônicos: o microscópio eletrônico de transmissão e o microscópio eletrônico de varredura.

Microscopia eletrônica de transmissão

No **microscópio eletrônico de transmissão (MET)**, um feixe de elétrons finamente focalizado de um canhão de elétrons passa através de um corte ultrafino da amostra, especialmente preparado (Figura 3.10a). O feixe é focalizado em uma pequena área da amostra por uma lente de condensador eletromagnética, que realiza uma função aproximadamente igual à do condensador de um microscópio óptico – direcionar o feixe de elétrons em uma linha reta para iluminar a amostra.

Os microscópios eletrônicos utilizam lentes eletromagnéticas para controlar a iluminação, o foco e a ampliação. Ao invés de ser colocada em uma lâmina de vidro, como nos microscópios ópticos, a amostra normalmente é colocada sobre uma tela de cobre. O feixe de elétrons passa através da amostra e então através de uma lente objetiva eletromagnética, que amplia a imagem. Finalmente, os elétrons são focalizados por uma lente projetora eletromagnética (em vez de uma lente ocular como no microscópio óptico) sobre uma tela fluorescente ou placa fotográfica. A imagem final, denominada *micrografia eletrônica de transmissão*, aparece como muitas áreas iluminadas e escuras, dependendo do número de elétrons absorvidos pelas diferentes áreas da amostra.

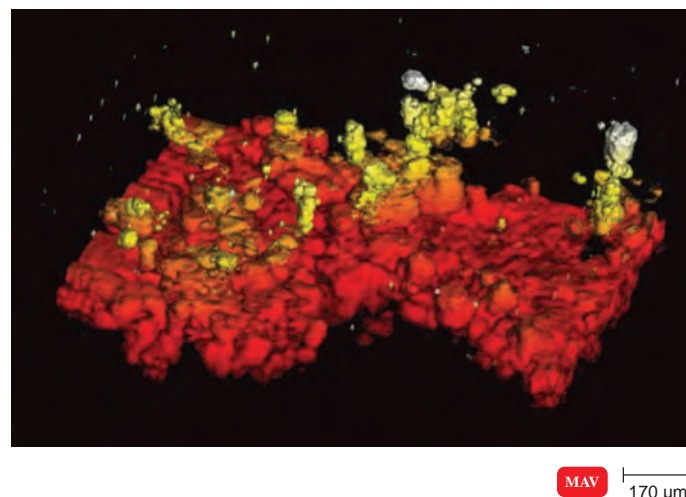



Figura 3.9 Microscopia acústica de varredura (MAV) de um biofilme bacteriano em uma lâmina. A microscopia acústica de varredura consiste essencialmente na interpretação da ação de ondas sonoras através da amostra.

P Qual o principal uso da MAV?

Na prática, o microscópio eletrônico de transmissão pode determinar objetos tão próximos quanto 2,5 nm, e os objetos geralmente são ampliados de 10.000 a 100.000×. Como a maioria das amostras microscópicas é muito fina, o contraste entre as suas ultraestruturas e o fundo é fraco. O contraste pode ser amplamente aumentado utilizando-se um "corante" que absorve os elétrons e produz uma imagem mais escura na região corada. Sais de vários metais pesados, como o chumbo, o ósmio, o tungstênio e o urânio, são comumente usados como corantes. Esses materiais podem ser fixados na amostra (*coloração positiva*) ou usados para aumentar a opacidade eletrônica do campo circundante (*coloração negativa*). A coloração negativa é útil para o estudo de amostras muito pequenas, como as partículas virais, os flagelos bacterianos e as moléculas de proteína.

Além da coloração positiva e negativa, um micróbio pode ser visualizado por uma técnica denominada *projeção de sombras*. Nesse procedimento, um metal pesado, como a platina ou o ouro, é pulverizado em um ângulo de 45°, para que atinja o micróbio somente por um lado. O metal se acumula de um lado da amostra, e a área não atingida no lado oposto da amostra deixa uma área clara atrás dela, como uma sombra. Isso dá um efeito tridimensional à amostra e fornece uma ideia geral do tamanho e da forma da mesma (veja MET na Figura 4.6, página 80).

A microscopia eletrônica de transmissão tem alta resolução e é extremamente valiosa para o exame de diferentes camadas das amostras. Contudo, ela possui algumas desvantagens. Como os elétrons possuem uma potência limitada de penetração, somente um corte muito delgado de uma amostra (cerca de 100 nm) pode

(a) Transmissão. (No alto) Em um microscópio eletrônico de transmissão, os elétrons passam através da amostra e são dispersos. As lentes magnéticas focalizam a imagem em uma tela fluorescente ou placa fotográfica. (Acima) Esta micrografia eletrônica de transmissão (MET) colorida mostra um corte delgado de um *Paramecium*. Nesse tipo de microscopia, as estruturas internas presentes no corte podem ser observadas.

(b) Varredura. (No alto) Em um microscópio eletrônico de varredura, os elétrons primários varrem a amostra e arrancam elétrons de sua superfície. Esses elétrons secundários são captados por um coletor, amplificados e transmitidos a uma tela de visualização ou chapa fotográfica. (Acima) Nesta micrografia eletrônica de varredura (MEV) colorida, as estruturas da superfície de um *Paramecium* podem ser observadas. Note o aspecto tridimensional desta célula, em contraste com o aspecto bidimensional da micrografia eletrônica de transmissão na parte (a).

Figura 3.10 Microscopia eletrônica de transmissão e de varredura. As ilustrações mostram as trajetórias dos feixes de elétrons usados para criar imagens das amostras. As fotografias mostram um *Paramecium* visto com ambos os tipos de microscópios eletrônicos. Embora as micrografias eletrônicas normalmente sejam pretas e brancas, neste livro essas e outras micrografias eletrônicas foram coloridas artificialmente para dar ênfase.

P Em que diferem as imagens de MET e MEV do mesmo organismo?

ser efetivamente estudado. Desse modo, a amostra não tem aspecto tridimensional. Além disso, as amostras devem ser fixadas, desidratadas e visualizadas em alto vácuo para prevenir a dispersão dos elétrons. Esses tratamentos não somente matam a amostra como também causam encolhimento e distorção, algumas vezes de tal forma que pode parecer que há estruturas adicionais em uma célula preparada. As estruturas que surgem como resultado do método de preparação são denominadas *artefatos*.

Microscopia eletrônica de varredura

O **microscópio eletrônico de varredura** (MEV) supera o problema do corte associado ao microscópio eletrônico de transmissão. Um microscópio eletrônico de varredura fornece imagens tridimensionais impressionantes das amostras (**Figura 3.10b**). Na microscopia eletrônica de varredura, um canhão de elétrons produz um feixe de elétrons finamente focalizado, denominado

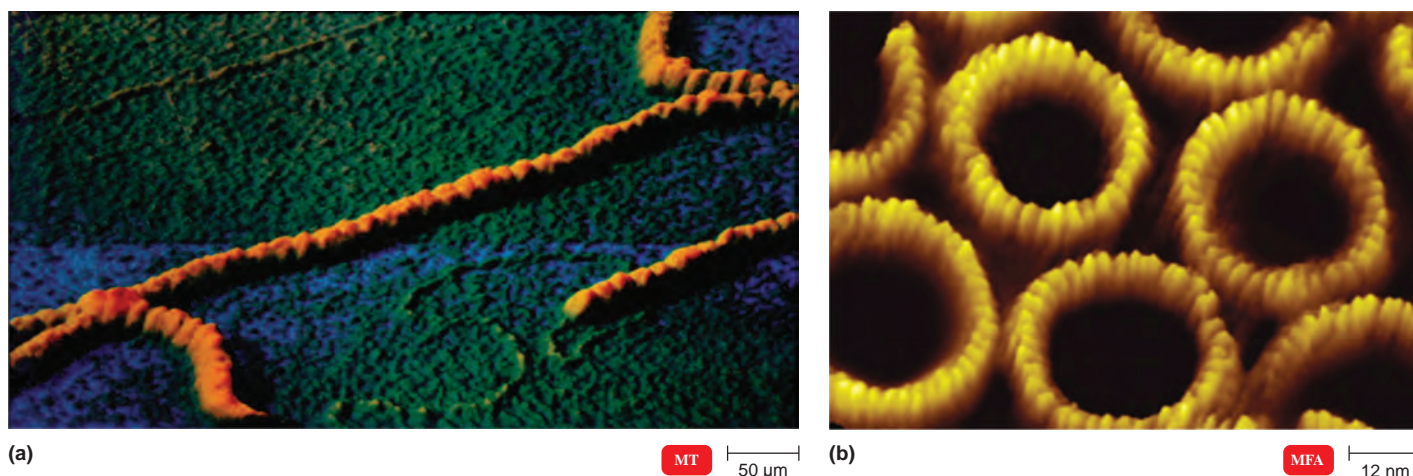



Figura 3.11 **Microscopia de varredura por sonda.** **(a)** Imagem da microscopia de tunelamento (MT) da proteína RecA de *E. coli*. Essa proteína está envolvida no reparo do DNA. **(b)** Imagem da microscopia de força atômica (MFA) da toxina perfringoglicina O de *Clostridium perfringens*. Essa toxina promove a formação de buracos em membranas plasmáticas.

P Qual é o princípio empregado na microscopia de varredura por sonda?

feixe eletrônico primário. Esses elétrons passam através de lentes eletromagnéticas e são dirigidos à superfície da amostra. O feixe primário de elétrons arranca elétrons da superfície da amostra, e os elétrons secundários produzidos são transmitidos a um coletor de elétrons, amplificados e usados para produzir uma imagem em uma tela ou chapa fotográfica. Essa imagem é chamada de *micrografia eletrônica de varredura*. Esse microscópio é especialmente útil no estudo das estruturas de superfície de células intactas e vírus. Na prática, ele pode determinar objetos tão próximos quanto 10 nm, e os objetos geralmente são ampliados de 1.000 a 10.000×.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que os microscópios eletrônicos têm uma resolução melhor do que os microscópios ópticos? **3-5**

Microscopia de varredura por sonda

Desde o início da década de 1980, vários novos tipos de microscópios, denominados **microscópios de varredura por sonda**, têm sido desenvolvidos. Eles utilizam vários tipos de sondas para examinar em escala muito próxima a superfície de uma amostra sem modificá-la ou expô-la à radiação de alta energia. Esses microscópios podem ser usados para mapear formas atômicas e moleculares, caracterizar propriedades magnéticas e químicas e determinar as variações de temperatura no interior das células. Dentre os novos microscópios de varredura por sonda estão o microscópio de tunelamento e o microscópio de força atômica, discutidos a seguir.

Microscopia de tunelamento

A **microscopia de tunelamento (MT)** utiliza uma fina sonda metálica (tungstênio) que varre a amostra e produz uma imagem que revela protuberâncias e depressões dos átomos na superfície da amostra (**Figura 3.11a**). A potência de resolução de uma MT é muito maior que a de um microscópio eletrônico, podendo determinar detalhes que são apenas 1/100 do tamanho de um átomo. Além disso, não é necessária uma preparação especial da amostra para a observação. As MTs são usadas para fornecer imagens incrivelmente detalhadas de moléculas como o DNA.

Microscopia de força atômica

Na **microscopia de força atômica (MFA)**, uma sonda de metal e diamante é levemente pressionada sobre a superfície de uma amostra. À medida que a sonda se move ao longo da superfície da amostra, seus movimentos são registrados, e uma imagem tridimensional é produzida (**Figura 3.11b**). Assim como na MT, a MFA não requer uma preparação especial da amostra. A MFA é usada para fornecer imagens tanto de substâncias biológicas (em detalhes a nível quase atômico) (veja também a Figura 17.3b na página 480) quanto de processos moleculares (como a montagem da fibrina, um componente do coágulo sanguíneo).

Os vários tipos de microscopia descritos anteriormente estão resumidos na **Tabela 3.2** (páginas 66 a 68).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Para que a microscopia eletrônica de transmissão é usada? E a microscopia de varredura por sonda? **3-6**

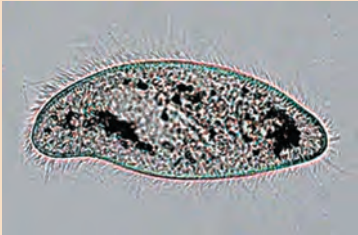
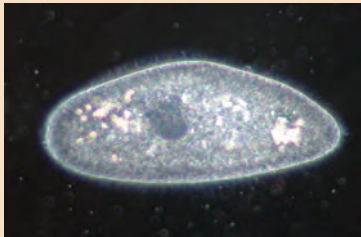
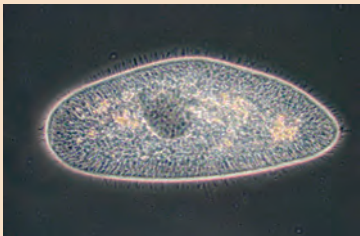
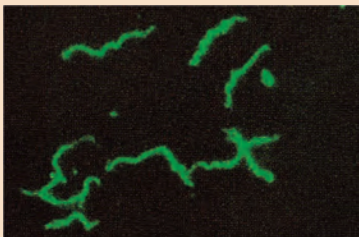



Tabela 3.2 Resumo dos vários tipos de microscópio

Tipo de microscópio	Características	Imagem característica	Principais usos
Óptico			
Campo claro	Utiliza luz visível como fonte de iluminação; não pode determinar estruturas menores que 0,2 μm; a amostra aparece contra um fundo claro. Barato e fácil de usar.	*Paramecium* MO 25 μm	Observar várias amostras coradas e contar micróbios; não determina amostras muito pequenas, como os vírus.
Campo escuro	Utiliza um condensador especial com um disco opaco que bloqueia a entrada de luz diretamente na lente objetiva; a luz refletida pela amostra entra na lente objetiva, e a amostra aparece clara contra um fundo preto.	*Paramecium* MO 25 μm	Examinar micro-organismos vivos que são invisíveis na microscopia de campo claro, que não se coram facilmente ou que são distorcidos pela coloração; frequentemente utilizado para detectar *Treponema pallidum* no diagnóstico da sífilis.
Contraste de fase	Utiliza um condensador especial contendo um diafragma anular (em forma de anel). O diafragma permite que a luz direta passe através do condensador, focalizando a luz na amostra e em uma placa de difração na lente objetiva. Os raios de luz diretos e refletidos ou difratados são reunidos para produzir a imagem. Não é necessária coloração.	*Paramecium* MO 25 μm	Facilitar o exame detalhado das estruturas internas das amostras vivas.
Contraste com interferência diferencial (CID)	Assim como o contraste de fase, utiliza as diferenças nos índices de refração para produzir imagens. Utiliza dois feixes de luz separados por prismas; a amostra aparece colorida como resultado do efeito do prisma. Não é necessária coloração.	*Paramecium* MO 25 μm	Fornecer imagens tridimensionais.
Fluorescência	Utiliza uma fonte de luz ultravioleta ou quase ultravioleta que leva à emissão de luz de compostos fluorescentes (de cor verde) em uma amostra.	*Treponema pallidum* MO 5 μm	Para técnicas de fluorescência com anticorpos (imunofluorescência), para detectar e identificar rapidamente os micróbios em tecidos ou amostras clínicas.

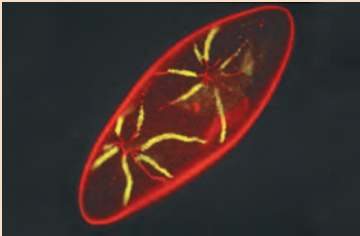
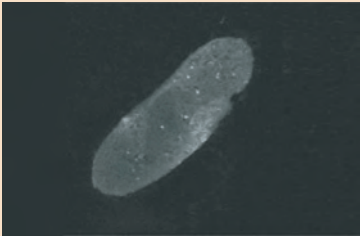
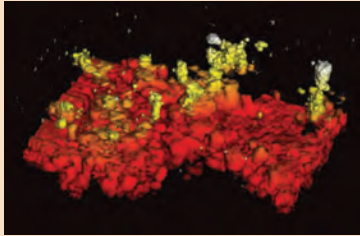
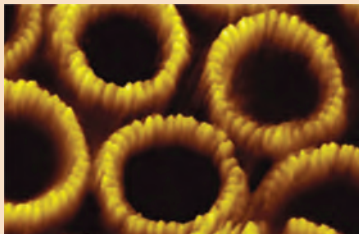
Tabela 3.2 Resumo dos vários tipos de microscópio

Tipo de microscópio	Características	Imagem característica	Principais usos
Confocal	Utiliza um único fóton para iluminar um plano da amostra de cada vez.	*Paramecium* CF 22 µm	Obter imagens bi e tridimensionais das células para aplicações biomédicas.
Dois fótons	Utiliza dois fótons para iluminar a amostra.	*Paramecium* MDF 20 µm	Formar imagens de células vivas, de até 1 mm de espessura, reduzir a fototoxicidade e observar a atividade celular em tempo real.
Acústica de varredura	Utiliza uma onda sonora de frequência específica que atravessa a amostra, com uma parte sendo refletida quando ela atinge uma interface dentro do material.	*Biofilme* MAV 300 µm	Examinar células vivas aderidas a outra superfície, como células cancerígenas, placas ateroscleróticas e biofilmes.
Eletrônico			
Transmissão	Utiliza um feixe de elétrons ao invés de luz; os elétrons passam através da amostra; devido ao comprimento de onda mais curto dos elétrons, estruturas menores que 0,2 µm podem ser determinadas. A imagem produzida é bidimensional.	*Paramecium* MET 25 µm	Examinar vírus ou a ultraestrutura interna em cortes delgados de células (normalmente ampliadas em 10.000 a 100.000x).
Varredura	Utiliza um feixe de elétrons ao invés de luz; os elétrons são refletidos a partir do espécime; devido ao comprimento de onda mais curto dos elétrons, estruturas menores que 0,2 µm podem ser determinadas. A imagem produzida é tridimensional.	*Paramecium* MEV 25 µm	Estudar as características de superfície das células e dos vírus (normalmente ampliados em 1.000 a 10.000x).

Tabela 3.2 Resumo dos vários tipos de microscópio

Tipo de microscópio	Características	Imagem característica	Principais usos
Varredura por sonda			
Tunelamento	Utiliza uma fina sonda de metal que varre a amostra e produz uma imagem que revela as protuberâncias e depressões dos átomos na superfície da amostra. A potência de resolução é muito maior que a de um microscópio eletrônico. Uma preparação especial não é necessária.	Proteína RecA de *E. coli* MT 5 nm	Fornece imagens muito detalhadas das moléculas no interior das células.
Força atômica	Utiliza uma sonda de metal e diamante que é levemente pressionada ao longo da superfície da amostra, produzindo uma imagem tridimensional. Uma preparação especial não é necessária.	Toxina perfringoglicina O de *Clostridium perfringens* MFA 11 nm	Fornece imagens tridimensionais de moléculas biológicas em alta resolução, em detalhes a um nível quase atômico, e pode avaliar propriedades físicas de amostras biológicas e processos moleculares.

Preparação de amostras para microscopia óptica

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **3-7** Diferenciar um corante ácido de um corante básico.
- **3-8** Explicar o propósito da coloração simples.
- **3-9** Listar as etapas na preparação de uma coloração de Gram, descrevendo a aparência das células gram-positivas e gram-negativas após cada etapa.
- **3-10** Comparar e contrastar a coloração de Gram e a coloração resistente a álcool-ácido.
- **3-11** Explicar por que cada uma das seguintes colorações é usada: coloração da cápsula, coloração do endosporo, coloração dos flagelos.

Como a maioria dos micro-organismos aparece quase incolor quando observada através de um microscópio óptico padrão, muitas vezes devemos prepará-los para a observação. Uma das formas pelas quais isso pode ser é através da coloração da amostra. A seguir, discutiremos vários procedimentos de coloração diferentes.

Preparando esfregaços para coloração

A maioria das observações iniciais dos micro-organismos é feita por meio de preparações coradas. **Coloração** significa simplesmente corar os micro-organismos com um corante que enfatize certas estruturas. Porém, antes que os micro-organismos possam ser corados, devem ser **fixados** (aderidos) à lâmina do microscópio. A fixação simultaneamente mata os micro-organismos e os fixa na lâmina. Ela também preserva várias partes dos micróbios em seu estado natural com apenas um mínimo de distorção.

Quando uma amostra precisa ser fixada, um filme delgado de material contendo os micro-organismos é espalhado sobre a superfície da lâmina. Esse filme, denominado **esfregaço**, é deixado secar ao ar. Na maioria dos procedimentos de coloração, a lâmina é então fixada pela passagem, várias vezes, sobre a chama de um bico de Bunsen, com o lado do esfregaço para cima, ou recobrindo a lâmina com álcool metílico por um minuto. A coloração é aplicada e então lavada com água; a seguir, a lâmina é seca com papel absorvente. Sem a fixação, a coloração poderia lavar os micróbios da lâmina. Os micro-organismos corados estão agora prontos para o exame microscópio.

Os corantes são sais compostos por um íon positivo e um íon negativo, um dos quais é colorido e conhecido como *cromóforo*. A cor dos assim chamados **corantes básicos** está no íon positivo; em **corantes ácidos**, está no íon negativo. As bactérias são levemente carregadas negativamente em pH 7. Desse modo, o íon positivo colorido em um corante básico é aderido à célula bacteriana carregada negativamente. Os corantes básicos, que incluem o cristal violeta, o azul de metileno, o verde de malaquita e a safranina, são mais comumente usados que os corantes ácidos. Os corantes ácidos não são

atraídos pela maioria dos tipos de bactérias porque os íons negativos do corante são repelidos pela superfície bacteriana carregada negativamente; assim, a coloração cora o fundo. A preparação de bactérias incolores contra um fundo corado é denominada **coloração negativa**. Ela é valiosa para a observação geral de formas da célula, tamanhos e cápsulas, pois as células tornam-se altamente visíveis contra um fundo escuro contrastante (veja a Figura 3.14a na página 72). As distorções do tamanho e da forma da célula são minimizadas porque a fixação não é necessária e as células não captam a coloração. Exemplos de corantes ácidos são a eosina, a fucsina ácida e a nigrosina.

Para aplicar corantes ácidos ou básicos, os microbiologistas utilizam três tipos de técnicas de coloração: simples, diferencial e especial.

Colorações simples

Uma **coloração simples** é uma solução aquosa ou alcoólica de um único corante básico. Embora diferentes corantes se liguem especificamente a diferentes partes das células, o objetivo primário de uma coloração simples é destacar todo o micro-organismo, para que as formas celulares e as estruturas básicas fiquem visíveis. A coloração é aplicada ao esfregaço fixo por certo período de tempo, e então lavada; a lâmina é seca e examinada. Algumas vezes, uma substância química é adicionada à solução para intensificar a coloração; este aditivo é denominado **mordente**. Uma função do mordente é aumentar a afinidade de uma coloração por uma amostra biológica; outra é revestir uma estrutura (como um flagelo) para torná-la mais espessa e mais fácil de ser vista após ser corada. Alguns dos corantes simples comumente usados em laboratório são o azul de metileno, a carbolfucsina, o cristal violeta e a safranina.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que um corante negativo não cora uma célula? **3-7**
- ✓ Por que a fixação é necessária na maioria dos procedimentos de coloração? **3-8**

Colorações diferenciais

Ao contrário das colorações simples, as **colorações diferenciais** reagem de modo distinto com diferentes tipos de bactérias, podendo assim ser usadas para diferenciá-las. As colorações diferenciais mais frequentemente utilizadas para bactérias são a coloração de Gram e a coloração álcool-ácido resistente.

Coloração de Gram

A **coloração de Gram** foi desenvolvida em 1884 pelo bacteriologista dinamarquês Hans Christian Gram. Ela é um dos procedimentos de coloração mais úteis, pois classifica as bactérias em dois grandes grupos: gram-positivas e gram-negativas.

Neste procedimento (**Figura 3.12a**),

1. Um esfregaço fixado pelo calor é recoberto com um corante básico púrpura, geralmente o cristal violeta. Uma vez que a coloração púrpura impregna todas as células, ela é denominada **coloração primária**.
2. Após um curto período de tempo, o corante púrpura é lavado, e o esfregaço é recoberto com iodo, um mordente. Quando o iodo é lavado, ambas as bactérias gram-positivas e gram-negativas aparecem em cor violeta escuro ou púrpura.
3. A seguir, a lâmina é lavada com álcool ou uma solução de álcool-acetona. Essa solução é um **agente descolorante**, que remove o púrpura das células de algumas espécies, mas não de outras.
4. O álcool é lavado, e a lâmina é então corada com safranina, um corante básico vermelho. O esfregaço é lavado novamente, seco com papel e examinado microscopicamente.

O corante púrpura e o iodo se combinam no citoplasma de cada bactéria, corando-a de violeta escuro ou púrpura. As bactérias que retêm essa cor após a tentativa de descolori-las com álcool são classificadas como **gram-positivas**; as bactérias que perdem a cor violeta escuro ou púrpura após a descoloração são classificadas como **gram-negativas** (**Figura 3.12b**). Como as bactérias gram-negativas são incolores após a lavagem com álcool, elas não são mais visíveis. É por isso que o corante básico safranina é aplicado; ele cora a bactérias gram-negativas de rosa. Os corantes como a safranina, que possuem uma cor contrastante com a coloração primária, são denominados **contracorantes**. Como as bactérias gram-positivas retêm a cor púrpura original, não são afetadas pelo contracorante safranina.

Como você verá no Capítulo 4, os diferentes tipos de bactérias reagem de modo distinto à coloração de Gram, pois diferenças estruturais em suas paredes celulares afetam a retenção ou a liberação de uma combinação de cristal violeta e iodo, denominada complexo cristal violeta-iodo (CV-I). Entre outras diferenças, as bactérias gram-positivas possuem uma parede celular de peptideoglicano mais espessa (dissacarídeos e aminoácidos) que as bactérias gram-negativas. Além disso, as bactérias gram-negativas contêm uma camada de lipopolissacarídeo (lipídeos e polissacarídeos) como parte de sua parede celular (veja a Figura 4.13, página 86). Quando aplicados a células gram-positivas e gram-negativas, o cristal violeta e o iodo penetram facilmente nas células. Dentro das mesmas, o cristal violeta e o iodo se combinam para formar o CV-I. Esse complexo é maior que a molécula de cristal violeta que penetrou na célula e, devido a seu tamanho, não pode ser removido da camada intacta de peptideoglicano das células gram-positivas pelo álcool. Consequentemente, as células gram-positivas retêm a cor do corante cristal violeta. Nas células gram-negativas, contudo, a lavagem com álcool rompe a camada externa de lipopolissacarídeo, e o complexo CV-I é removido através da camada delgada de peptideoglicano. Como resultado, as células gram-negativas permanecem incolores até serem contracoradas com a safranina, quando adquirem a cor rosa.

Em resumo, as células gram-positivas retêm o corante e permanecem com a cor púrpura. As células gram-negativas não retêm o corante; elas ficam incolores até serem contracoradas com um corante vermelho.

O método de Gram é uma das mais importantes técnicas de coloração na microbiologia médica. Porém, os resultados da coloração de Gram não são universalmente aplicáveis, pois algumas células bacterianas coram-se fracamente ou não adquirem cor. A reação de Gram é mais consistente quando utilizada em bactérias jovens, em crescimento.

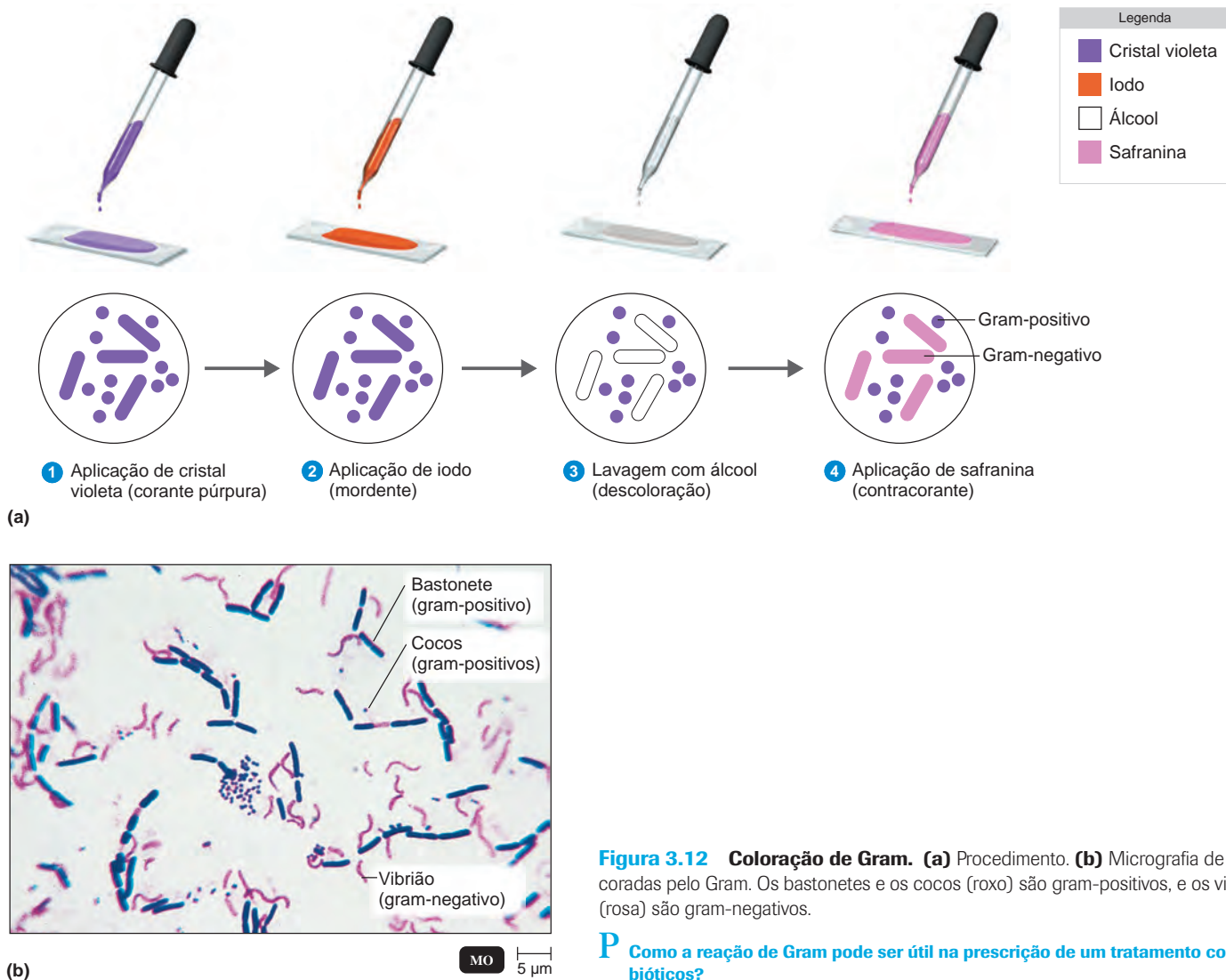



Figura 3.12 **Coloração de Gram.** **(a)** Procedimento. **(b)** Micrografia de bactérias coradas pelo Gram. Os bastonetes e os cocos (roxo) são gram-positivos, e os vibriões (rosa) são gram-negativos.

P **Como a reação de Gram pode ser útil na prescrição de um tratamento com antibióticos?**

A reação de Gram de uma bactéria pode fornecer informações valiosas para o tratamento da doença. As bactérias gram-positivas tendem a ser mortas mais facilmente por penicilinas e cefalosporinas. As bactérias gram-negativas geralmente são mais resistentes porque os antibióticos não podem penetrar a camada de lipopolissacarídeo. Parte da resistência a estes antibióticos entre ambas as bactérias gram-positivas e gram-negativas é devida à inativação bacteriana dos antibióticos.

Coloração álcool-ácido resistente

Outra importante coloração diferencial (que classifica as bactérias em grupos distintos) é a **coloração álcool-ácido resistente**, que se liga fortemente apenas a bactérias que possuem material céreo em suas paredes celulares. Os microbiologistas utilizam essa coloração para identificar todas as bactérias do gênero *Mycobacterium*, incluindo os dois importantes patógenos *Mycobacterium tuberculosis*, o agente causador da tuberculose, e *Mycobacterium leprae*, o agente causador da lepra. Essa coloração também é usada para identificar as linhagens patogênicas do gênero *Nocardia*. As bactérias dos gêneros *Mycobacterium* e *Nocardia* são álcool-ácido resistentes.

P&R No procedimento de coloração álcool-ácido resistente, o corante vermelho carbolfucsina é aplicado a um esfregaço fixado, e a lâmina é aquecida levemente por vários minutos. (O calor aumenta a penetração e a retenção do corante.) A seguir, a lâmina é resfriada e lavada com água. O esfregaço é tratado com álcool-ácido, um descolorante, que remove o corante vermelho das bactérias que não são álcool-ácido resistentes. Os micro-organismos álcool-ácido resistentes retêm a cor vermelha, pois a carbolfucsina é mais solúvel nos lipídeos da parede celular que no álcool-ácido (**Figura 3.13**). Em bactérias que não são álcool-ácido

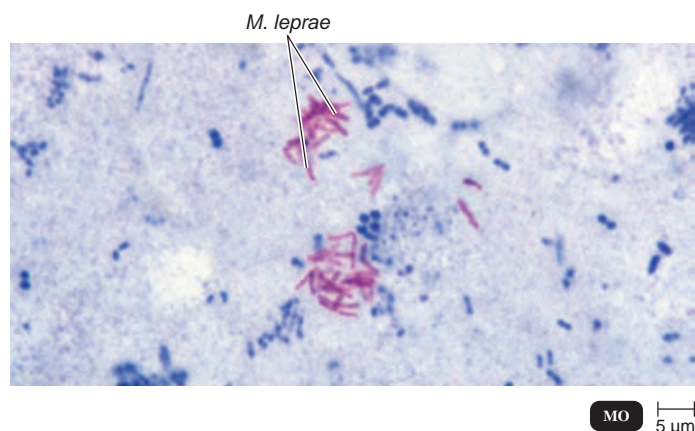



Figura 3.13 **Bactérias álcool-ácido resistentes (BAAR).** As bactérias *Mycobacterium leprae* que infectaram este tecido foram coradas de vermelho com uma coloração álcool-ácido. As células que não são álcool-ácido resistentes estão coradas com o contracorante azul de metileno.

P **Nomeie duas doenças que podem ser diagnosticadas utilizando-se a coloração álcool-ácido resistente.**

resistentes, cujas paredes celulares não possuem os componentes lipídicos, a carbolfucsina é rapidamente removida durante a descoloração, deixando as células incolores. O esfregaço é então corado com o contracorante azul de metileno. As células que não são álcool-ácido resistentes ficam azuis após a aplicação do contracorante.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✔ Por que a coloração de Gram é tão útil? **3-9**
- ✔ Qual coloração poderia ser utilizada para identificar micróbios dos gêneros *Mycobacterium* e *Nocardia*? **3-10**

Colorações especiais

As **colorações especiais** são usadas para corar e isolar partes específicas dos micro-organismos, como os endosporos e os flagelos, e para revelar a presença de cápsulas.

Coloração negativa para cápsulas

Muitos micro-organismos contêm um revestimento gelatinoso denominado **cápsula**, que discutiremos em nosso exame da célula procariótica, no Capítulo 4. Na microbiologia médica, a demonstração da presença de uma cápsula é um modo de determinar a **virulência** do organismo, o grau em que um patógeno pode causar doença.

A coloração da cápsula é mais difícil que outros tipos de procedimentos de coloração, pois os materiais capsulares são solúveis em água e podem ser desalojados ou removidos durante uma lavagem rigorosa. Para demonstrar a presença de cápsulas, um microbiologista pode misturar as bactérias em uma solução contendo uma fina suspensão coloidal de partículas coradas (geralmente com tinta nanquim ou nigrosina), para fornecer um fundo contrastante e então corar as bactérias com uma coloração simples, como a safranina (**Figura 3.14a**). Devido à sua composição química, as cápsulas não reagem com a maioria dos corantes, como a safranina, e desse modo aparecem como halos circundando cada célula bacteriana.

Coloração para endosporos (esporos)

Um **endosporo** é uma estrutura especial resistente, dormente, formada dentro de uma célula que protege uma bactéria das condições ambientais adversas. Embora os endosporos sejam relativamente incomuns nas células bacterianas, podem ser formados por alguns gêneros de bactérias. Os endosporos não podem ser corados pelos métodos comuns, como a coloração simples e a coloração de Gram, pois os corantes não penetram a parede do endosporo.

A coloração mais comumente usada para endosporos é a *técnica de Schaeffer-Fulton* (**Figura 3.14b**). O verde malaquita, a coloração primária, é aplicado a um esfregaço fixado com calor e aquecido em vapor por cerca de cinco minutos. O calor auxilia a coloração a penetrar na parede do endosporo. Então, a preparação é lavada por cerca de 30 segundos com água, para remover o verde malaquita de todas as partes da célula, exceto dos endosporos. A seguir, a safranina, um contracorante, é aplicada ao esfregaço para corar as porções da célula que não os endosporos. Em um esfregaço corretamente preparado, os endosporos aparecem em verde dentro de células vermelhas ou rosadas. Como os endosporos são altamente refrativos, podem ser detectados no microscópio óptico quando não corados, mas não podem ser diferenciados de inclusões de material armazenado sem uma coloração especial.

Coloração dos flagelos

Os **flagelos** bacterianos são estruturas de locomoção muito pequenas para serem visualizadas com um microscópio óptico sem coloração. Um procedimento tedioso e delicado de coloração utiliza um mordente e o corante carbolfucsina para aumentar os diâmetros dos flagelos até que eles se tornem visíveis no microscópio óptico (**Figura 3.14c**). Os microbiologistas utilizam o número e o arranjo dos flagelos como auxiliares de diagnóstico.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✔ De que maneira os endosporos não corados aparecem? E os endosporos corados? **3-11**

* * *

Um resumo das colorações é apresentado na **Tabela 3.3**. Nos próximos capítulos, examinaremos melhor as estruturas dos micróbios e como eles se protegem, nutrem e reproduzem.

(a) Coloração negativa. MO 5 µm

(b) Coloração para endosporos. MO 5 µm

(c) Coloração para flagelos.

Figura 3.14 Colorações especiais. (a) A coloração da cápsula fornece um fundo contrastante; assim, as cápsulas dessa bactéria, *Klebsiella pneumoniae*, apresentam-se como áreas claras circundando as células coradas. **(b)** Os endosporos são vistos como formas ovais verdes nessas células em forma de bastão da bactéria *Bacillus cereus*, utilizando-se a coloração de Schaeffer-Fulton para endosporos. **(c)** Os flagelos aparecem como extensões ondulantes a partir das extremidades dessa célula da bactéria *Spirillum volutans*. Em relação ao corpo da célula, os flagelos encontram-se muito mais espessos que o normal, pois ocorreu o acúmulo de camadas do corante devido ao tratamento da amostra com um mordente.

P Qual a importância das cápsulas, dos endosporos e dos flagelos para as bactérias?

Tabela 3.3 Resumo de várias colorações e seus usos

Coloração	Principais usos
Simples (azul de metileno, carbolfucsina, cristal violeta, safranina)	Utilizada para destacar os micro-organismos e para determinar as formas e os arranjos celulares. Uma solução aquosa ou alcoólica de um único corante básico cora as células. (Algumas vezes, um mordente é adicionado para intensificar a coloração.)
Diferencial Gram	Utilizada para distinguir diferentes tipos de bactérias. Classifica as bactérias em dois grandes grupos: gram-positivas e gram-negativas. As bactérias gram-positivas retêm o corante cristal violeta e adquirem a cor púrpura. As bactérias gram-negativas não retêm o cristal violeta e permanecem incolores, até serem contracoradas com safranina, quando adquirem a cor rosa.
Álcool-ácido resistente	Utilizada para distinguir espécies de *Mycobacterium* e algumas espécies de *Nocardia*. As bactérias álcool-ácido resistentes, uma vez coradas com carbolfucsina e tratadas com álcool-ácido, permanecem vermelhas, pois retêm o corante carbolfucsina. As bactérias álcool-ácido sensíveis, quando coradas e tratadas da mesma forma e a seguir coradas com azul de metileno, adquirem a cor azul, pois perdem a carbolfucsina e são então capazes de aceitar o corante azul de metileno.
Especial	Utilizada para corar e isolar várias estruturas, como cápsulas, endosporos e flagelos; algumas vezes usada como auxiliar de diagnósticos.
Negativa	Utilizada para demonstrar a presença de cápsulas. Uma vez que as cápsulas não reagem com a maioria dos corantes, apresentam-se como halos incolores em torno das células bacterianas, destacando-se contra um fundo escuro.
Endosporos	Utilizada para detectar a presença de endosporos nas bactérias. Quando o verde malaquita é aplicado a um esfregaço de células bacterianas fixado pelo calor, o corante penetra nos endosporos e os cora de verde. Quando a safranina (vermelha) é adicionada, cora o restante da célula de vermelho ou rosa.
Flagelos	Utilizada para demonstrar a presença de flagelos. Um mordente é usado para aumentar os diâmetros dos flagelos até que se tornem visíveis microscopicamente quando corados com carbolfucsina.

RESUMO PARA ESTUDO

Unidades de medida (p. 55)

1. A unidade-padrão de comprimento é o metro (m).
2. Os micro-organismos são medidos em micrômetros, µm (10^{-6} m), e nanômetros, nm (10^{-9} m).

Microscopia: os instrumentos (p. 55-68)

1. Um microscópio simples possui uma lente; um microscópio composto possui múltiplas lentes.

Microscopia óptica (p. 56, 58-62)

Microscopia óptica composta (p. 56, 58, 59)

2. O microscópio mais comum usado em análises microbiológicas é o microscópio óptico composto (MO).
3. A ampliação total de um objeto é calculada multiplicando-se a ampliação da lente objetiva pela ampliação da lente ocular.
4. O microscópio óptico composto utiliza luz visível.
5. A resolução máxima, ou potência de resolução (a capacidade de distinguir entre dois pontos), de um microscópio óptico composto é de 0,2 µm; a ampliação máxima é de 2.000×.
6. As amostras são coradas para aumentar a diferença entre os índices de refração da amostra e do meio.
7. O óleo de imersão é utilizado com lentes de imersão para reduzir a perda de luz entre a lâmina e a lente.
8. A iluminação em campo claro é utilizada para esfregaços corados.
9. As células não coradas são observadas de modo mais eficiente utilizando-se a microscopia de campo escuro, contraste de fase ou CID.

Microscopia de campo escuro (p. 59)

10. O microscópio de campo escuro mostra uma silhueta de luz de um organismo contra um fundo escuro.
11. Esse tipo de microscopia é mais útil para detectar a presença de organismos extremamente pequenos.

Microscopia de contraste de fase (p. 59, 60)

12. Um microscópio de contraste de fase agrupa os raios de luz diretos e refletidos ou difratados (em fase) para formar uma imagem da amostra na lente ocular.
13. Este tipo de microscopia permite a observação detalhada de organismos vivos.

Microscopia de contraste com interferência diferencial (CID) (p. 60)

14. O microscópio CID fornece uma imagem tridimensional colorida do objeto sendo observado.
15. Este tipo de microscopia permite uma observação detalhada dos organismos vivos.

Microscopia de fluorescência (p. 61, 62)

16. Na microscopia de fluorescência, as amostras são primeiramente marcadas com fluorocromos e então visualizadas através de um microscópio composto utilizando-se uma fonte de luz ultravioleta.
17. Os micro-organismos aparecem como objetos luminosos contra um fundo escuro.
18. A microscopia de fluorescência é usada principalmente em um procedimento diagnóstico denominado técnica de anticorpo fluorescente (FA) ou imunofluorescência.

Microscopia confocal (p. 62)

19. Na microscopia confocal, uma amostra é corada com um corante fluorescente, sendo então excitada com raios de luz de baixo comprimento de onda.
20. Utilizando um computador para o processamento das imagens, podem-se obter imagens bi ou tridimensionais das células.

Microscopia de dois fótons (p. 62)

21. Na microscopia de dois fótons, uma amostra viva é corada com um corante fluorescente e excitada com raios de luz de comprimento de onda longo.

Microscopia acústica de varredura (p. 63)

22. A microscopia acústica de varredura (MAV) tem como base a interpretação de ondas sonoras através de uma amostra.
23. Este tipo de microscopia é utilizado para estudar células vivas aderidas a superfícies, tais como células cancerígenas, placas ateroscleróticas e biofilmes.

Microscopia eletrônica (p. 63-65)

24. Em vez de luz, um feixe de elétrons é utilizado em um microscópio eletrônico.
25. Em vez de lentes de vidro, eletromagnetos controlam o foco, a iluminação e a ampliação.
26. Cortes delgados de organismos podem ser observados em uma micrografia eletrônica produzida utilizando-se um microscópio eletrônico de transmissão (MET). Ampliação: 10.000 a 100.000×. Potência de resolução: 2,5 nm.

27. Imagens tridimensionais das superfícies de um micro-organismo podem ser obtidas com um microscópio eletrônico de varredura (MEV). Ampliação: 1.000 a 10.000×. Potência de resolução: 20 nm.

Microscopia de varredura por sonda (p. 65)

28. A microscopia de tunelamento (MT) e microscopia de força atômica (MFA) produzem imagens tridimensionais da superfície de uma molécula.

Preparação de amostras para microscopia óptica (p. 68-72)

Preparando esfregaços para coloração (p. 68, 69)

1. Realizar uma coloração significa corar um micro-organismo com um corante para tornar algumas de suas estruturas mais visíveis.
2. A fixação utiliza calor ou álcool para matar e aderir os micro-organismos a uma lâmina.
3. Um esfregaço é um filme delgado de material utilizado para o exame microscópico.

4. As bactérias são carregadas negativamente, e o íon positivo colorido de um corante básico irá corar as células bacterianas.
5. O íon negativo colorido de um corante ácido irá corar o fundo de um esfregaço bacteriano; uma coloração negativa é produzida.

Coloração simples (p. 69)

6. Uma coloração simples é uma solução aquosa ou alcoólica de um único corante básico.
7. Este tipo de coloração é utilizado para tornar as formas e os arranjos celulares mais visíveis.
8. Um mordente pode ser usado para aumentar a ligação entre o corante e a amostra.

Colorações diferenciais (p. 69-71)

9. As colorações diferenciais, como a coloração de Gram e a coloração álcool-ácido resistente, diferenciam as bactérias de acordo com suas reações aos corantes.
10. A coloração de Gram utiliza um corante púrpura (cristal violeta), iodo como mordente, álcool como descolorante e um contracorante vermelho.
11. As bactérias gram-positivas retêm o corante púrpura após a etapa de descoloração; as bactérias gram-negativas não retêm o corante púrpura e ficam rosadas após o uso do contracorante.
12. Os micróbios álcool-ácido resistentes, como os membros do gênero *Mycobacterium* e *Nocardia*, retêm a carbolfucsina após a etapa de descoloração com álcool-ácido e aparecem vermelhos; os micróbios álcool-ácido sensíveis captam o contracorante azul de metileno e aparecem azuis.

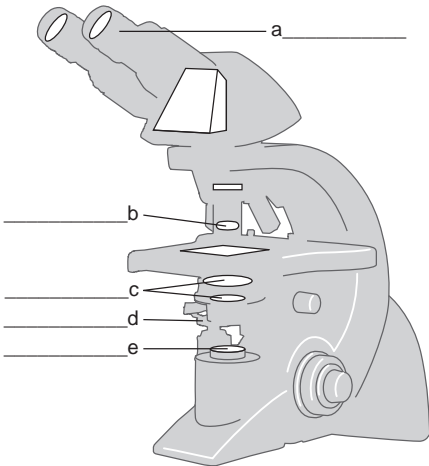
Colorações especiais (p. 71, 72)

13. A coloração negativa é utilizada para tornar visíveis as cápsulas microbianas.
14. As colorações para endosporos e flagelos são colorações especiais que coram somente certas partes das bactérias.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Preencha as seguintes lacunas:
   a. 1 μm = m
   b. 1 = 10^{-9} m
   c. 1 μm = nm
2. Que tipo de microscópio seria o melhor para se observar cada um dos seguintes itens?
   a. Um esfregaço corado de bactérias.
   b. Células bacterianas não coradas quando as células são pequenas e não há necessidade de detalhes.
   c. Tecido vivo não corado quando se deseja observar mais detalhes intracelulares.
   d. Uma amostra que emite luz quando excitada com luz ultravioleta.
   e. Detalhe intracelular de uma célula que possui 1 μm de comprimento.
   f. Células vivas não coradas em que as estruturas intracelulares são mostradas em cores.
3. **DESENHE** Identifique as partes de um microscópio óptico composto na figura abaixo e então desenhe a trajetória percorrida pela luz a partir do iluminador até o seu olho.

4. Calcule a ampliação total do núcleo de uma célula sendo observada através de um microscópio óptico composto com uma lente ocular de 10× e uma lente de imersão em óleo.
5. A ampliação máxima de um microscópio óptico composto é (a)__________, enquanto a de um microscópio eletrônico é (b) __________. A resolução máxima de um microscópio composto é (c)__________, enquanto a de um microscópio eletrônico é (d) __________. Uma vantagem da microscopia eletrônica de varredura em relação à microscopia eletrônica de transmissão é (e) __________.
6. Por que o mordente é utilizado na coloração de Gram e na coloração de flagelos?
7. Qual o propósito do uso de um contracorante na coloração álcool-ácido resistente?
8. Qual o objetivo do uso de um descolorante na coloração de Gram? E na coloração álcool-ácido resistente?
9. Preencha a seguinte tabela sobre a coloração de Gram:

	Aparência após esta etapa	
Etapas	**Células gram-positivas**	**Células gram-negativas**
Cristal violeta	a. __________	e. __________
Iodo	b. __________	f. __________
Álcool-acetona	c. __________	g. __________
Safranina	d. __________	h. __________

Múltipla escolha

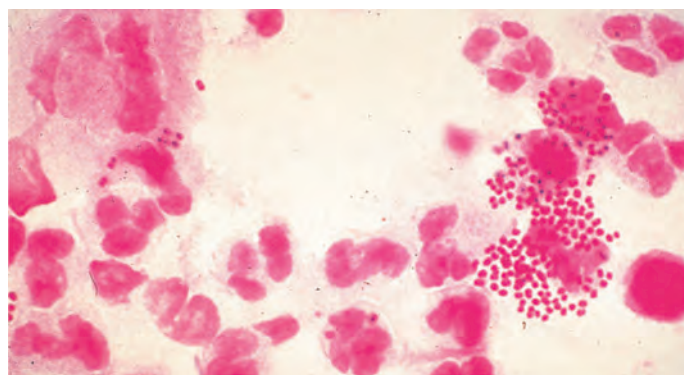
1. Suponha que você corou uma amostra de *Bacillus* aplicando uma solução de verde malaquita aquecida e então contracorou com safranina. Olhando no microscópio, as estruturas verdes são:
   a. Paredes celulares.
   b. Cápsulas.
   c. Endosporos.
   d. Flagelos.
   e. Impossível de identificar.
2. Imagens tridimensionais de células vivas podem ser obtidas com:
   a. Microscopia de campo escuro.
   b. Microscopia de fluorescência.
   c. Microscopia eletrônica de varredura.
   d. Microscopia de dois fótons.
   e. Todas as alternativas.

3. A carbolfucsina pode ser usada como um corante simples e como um corante negativo. Como corante simples, o pH deve ser:
   a. 2.
   b. Maior que o corante negativo.
   c. Menor que o corante negativo.
   d. O mesmo usado na coloração negativa.
4. Examinando a célula de um micro-organismo fotossintetizante, você observa que os cloroplastos são verdes na microscopia de campo claro e vermelhos na microscopia de fluorescência. Você conclui que:
   a. A clorofila é fluorescente.
   b. A ampliação distorceu a imagem.
   c. Você não visualizou a mesma estrutura em ambos os microscópios.
   d. A coloração mascarou a cor verde.
   e. Nenhuma das alternativas.
5. Qual das seguintes opções *não* corresponde a um par funcionalmente análogo de corantes?
   a. Nigrosina e verde malaquita.
   b. Cristal violeta e carbolfucsina.
   c. Safranina e azul de metileno.
   d. Etanol-acetona e álcool-ácido.
   e. Nenhuma das alternativas.
6. Qual dos seguintes pares não está correto?
   a. Cápsula – coloração negativa.
   b. Arranjo celular – coloração simples.
   c. Tamanho das células – coloração negativa.
   d. Coloração de Gram – identificação bacteriana.
   e. Nenhuma das alternativas.
7. Imagine que você corou uma amostra de *Clostridium* com a aplicação do corante básico carbolfucsina aquecido. A descoloração se dá com álcool-ácido e a contracoloração com um corante ácido conhecido como nigrosina. Pelo microscópio, os endosporos são _1_ e as células são _2_.
   a. 1 – vermelho; 2 – preto.
   b. 1 – preto; 2 – incolor.
   c. 1 – incolor; 2 – preto.
   d. 1 – vermelho; 2 – incolor.
   e. 1 – preto; 2 – vermelho.
8. Imagine que você está observando um campo microscópico de uma amostra corada pelo método de Gram, com cocos vermelhos e bacilos azuis. Você pode concluir com segurança que:
   a. Cometeu um engano durante o procedimento de coloração.
   b. Está observando duas espécies diferentes.
   c. As células bacterianas estão velhas.
   d. As células bacterianas são jovens.
   e. Nenhuma das alternativas.
9. Em 1996, os cientistas descreveram uma nova tênia que havia matado pelo menos uma pessoa. O exame inicial da massa abdominal do paciente mais provavelmente foi realizado utilizando-se:
   a. Microscopia de campo claro.
   b. Microscopia de campo escuro.
   c. Microscopia eletrônica.
   d. Microscopia de contraste de fase.
   e. Microscopia de fluorescência.
10. Qual das seguintes alternativas *não* corresponde a uma modificação do microscópio óptico composto?
   a. Microscópio de campo claro.
   b. Microscópio de campo escuro.
   c. Microscópio eletrônico.
   d. Microscópio de contraste de fase.
   e. Microscópio de fluorescência.

Pensamento crítico

1. Durante uma coloração de Gram, uma etapa pode ser omitida e ainda assim permitir a diferenciação entre células gram-positivas e gram--negativas. Que etapa é essa?
2. Utilizando um bom microscópio composto com uma potência de resolução de 0,3 µm, uma lente ocular com um aumento de 10×, e uma lente objetiva de imersão em óleo com aumento de 100×, você seria capaz de discernir dois objetos separados por 3 µm, por 0,3 µm e por 300 nm?
3. Por que a coloração de Gram não é recomendada para uso em bactérias álcool-ácido resistentes? Se você realizasse uma coloração de Gram em bactérias álcool-ácido resistentes, qual seria sua reação de Gram? Qual a reação de Gram para bactérias álcool-ácido sensíveis?
4. Os endosporos podem ser vistos como estruturas com refração em meio a células não coradas e como áreas incolores em meio a células coradas pelo método de Gram. Por que é necessária uma coloração para verificar a presença de endosporos?

Aplicações clínicas

1. Em 1882, o bacteriologista alemão Paul Erhlich descreveu um método para corar *Mycobacterium* e observou: "Pode ser que todos os agentes desinfetantes que são ácidos não exerçam nenhum efeito sobre este bacilo (da tuberculose), e teremos de nos limitar aos agentes alcalinos". Como ele chegou a esta conclusão sem testar os desinfetantes?
2. O diagnóstico laboratorial da infecção por *Neisseria gonorrhoeae* tem como base o exame microscópico de pus corado pelo método de Gram. Identifique a bactéria nesta micrografia óptica. Qual é a doença?

3. Imagine que você está observando uma amostra de secreção vaginal corada pelo método de Gram. Grandes células vermelhas nucleadas (10 µm) estão recobertas com pequenas células azuis em suas superfícies (0,5 µm X 1,5 µm). Qual a explicação mais provável para a ocorrência de células vermelhas e azuis?
4. Uma amostra de expectoração de Calle, um elefante asiático de 30 anos de idade, foi colocada sobre uma lâmina e exposta ao ar para secar. O esfregaço foi fixado, coberto com carbolfucsina e aquecido por cinco minutos. Após uma lavagem com água, foi adicionado álcool--ácido ao esfregaço por 30 segundos. Finalmente, o esfregaço foi corado com azul de metileno por 30 segundos, lavado com água e secado. Durante o exame sob aumento de 1.000×, o veterinário do zoológico observou bacilos vermelhos sobre a lâmina. Que infecções são sugeridas pelos resultados? (Calle foi tratado e se recuperou.)

4 Anatomia Funcional de Células Procarióticas e Eucarióticas

Apesar de sua complexidade e variedade, todas as células vivas podem ser classificadas em dois grupos, procarióticas e eucarióticas, com base em certas características funcionais e estruturais. Em geral, os procariotos são estruturalmente mais simples e menores que os eucariotos. O DNA (material genético) dos procariotos é arranjado em um cromossomo simples e circular, não sendo circundado por uma membrana; o DNA dos eucariotos é encontrado em cromossomos múltiplos em um núcleo circundado por uma membrana. Procariotos não possuem organelas revestidas por membranas, as quais são estruturas celulares especializadas que possuem funções específicas. Diferenças adicionais são discutidas brevemente.

Plantas e animais são inteiramente compostos de células eucarióticas. No mundo microbiano, as bactérias e as arquibactérias são procariotos. Outros micro-organismos celulares – fungos (leveduras e bolores), protozoários e algas – são eucariotos. Os humanos exploram as diferenças entre bactérias (procariotos) e células humanas (eucariotos) para se proteger de doenças. Por exemplo, certas drogas matam ou inibem bactérias sem causar dano às células humanas, e moléculas químicas nas superfícies das bactérias estimulam o corpo a montar a resposta defensiva para eliminá-las.

Os vírus, como elementos acelulares, não se encaixam em qualquer classificação organizacional das células vivas. Eles são partículas genéticas que se replicam, mas são incapazes de promover as atividades químicas usuais das células vivas. Os vírus serão discutidos no Capítulo 13. Neste capítulo, vamos nos concentrar em células procarióticas e eucarióticas.

SOB O MICROSCÓPIO

Staphylococcus aureus destruindo um fagócito. A bactéria S. *aureus* produz a toxina *leucocidina*, que destrói as células brancas do hospedeiro.

P&R

A penicilina foi chamada de "droga miraculosa" por não danificar as células humanas. Qual a razão de não causar dano?

Procure pela resposta neste capítulo.

Comparando as células procarióticas e eucarióticas: visão geral

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-1 Comparar e diferenciar a estrutura celular geral de procariotos e eucariotos.

Procariotos e eucariotos são quimicamente similares, no sentido de que ambos contêm ácidos nucleicos, proteínas, lipídeos e carboidratos. Eles usam os mesmos tipos de reações químicas para metabolizar o alimento, formar proteínas e armazenar energia. É principalmente a estrutura das paredes celulares e membranas e a ausência de *organelas* (estruturas celulares especializadas que possuem funções específicas) que distinguem procariotos de eucariotos.

As principais características diferenciais dos **procariotos** (do termo grego significando pré-núcleo) são as seguintes:

1. Seu DNA não está envolvido por uma membrana, e ele é um cromossomo de arranjo circular. (Algumas bactérias, como a *Vibrio cholerae*, têm dois cromossomos, e algumas bactérias possuem um cromossomo com arranjo linear.)
2. Seu DNA não está associado com histonas (proteínas cromossômicas especiais encontradas em eucariotos); outras proteínas estão associadas ao DNA.
3. Eles não possuem organelas revestidas por membrana.
4. Suas paredes celulares quase sempre contêm o polissacarídeo complexo peptideoglicano.
5. Eles normalmente se dividem por **fissão binária**. Durante esse processo, o DNA é duplicado e a célula se divide em duas. A fissão binária envolve menos estruturas e processos que a divisão das células eucarióticas.

Os **eucariotos** (do termo grego significando núcleo verdadeiro) possuem as seguintes características:

1. Seu DNA é encontrado no núcleo das células, que é separado do citoplasma por uma membrana nuclear, em cromossomos múltiplos.
2. Seu DNA é consistentemente associado às proteínas cromossômicas histonas e às proteínas não histonas.
3. Eles possuem diversas organelas revestidas por membranas, incluindo mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomos e algumas vezes cloroplastos.
4. Suas paredes celulares, quando presentes, são quimicamente simples.
5. A divisão celular geralmente envolve mitose, na qual os cromossomos são duplicados e um conjunto idêntico é distribuído para cada um dos dois núcleos Esse processo é controlado pelo fuso mitótico, um feixe de microtúbulos no formato de uma bola de futebol americano. A divisão do citoplasma e de outras organelas segue-se a esse processo, de modo que haverá a produção de duas células idênticas.

Outras diferenças entre células procarióticas e eucaróticas estão listadas na Tabela 4.2 na página 101. A seguir vamos descrever em detalhes as partes da célula procariótica.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual a principal característica que distingue procariotos de eucariotos? **4-1**

A CÉLULA PROCARIÓTICA

Os membros do mundo procariótico compõem um vasto grupo heterogêneo de organismos unicelulares muito pequenos. Os procariotos incluem as bactérias e as arquibactérias. A maioria dos procariotos, incluindo as cianobactérias fotossintetizadoras, faz parte do grupo das bactérias. Embora as bactérias e as arquibactérias pareçam similares, sua composição química é diferente, como será descrito posteriormente. As milhares de espécies de bactérias são diferenciadas por muitos fatores, incluindo morfologia (forma), composição química (frequentemente detectada por reações de coloração), necessidades nutricionais, atividades bioquímicas e fontes de energia (luz solar ou química). É estimado que 99% das bactérias na natureza existam na forma de biofilmes (veja as páginas 57 e 162).

O tamanho, a forma e o arranjo das células bacterianas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-2 Identificar as três formas básicas das bactérias.

Existem muitos tamanhos e formas de bactérias. A maioria das bactérias varia de 0,2 a 2,0 μm de diâmetro e de 2 a 8 μm de comprimento. Elas possuem algumas formas básicas: **cocos** esféricos (que significa frutificação), **bacilos** em forma de bastão (que significa bastonete) e **espiral**.

Os cocos geralmente são redondos, mas podem ser ovais, alongados ou achatados em uma das extremidades. Quando os cocos se dividem para se reproduzir, as células podem permanecer ligadas umas às outras. Cocos que permanecem aos pares após a divisão são chamados de **diplococos**; aqueles que se dividem e permane-

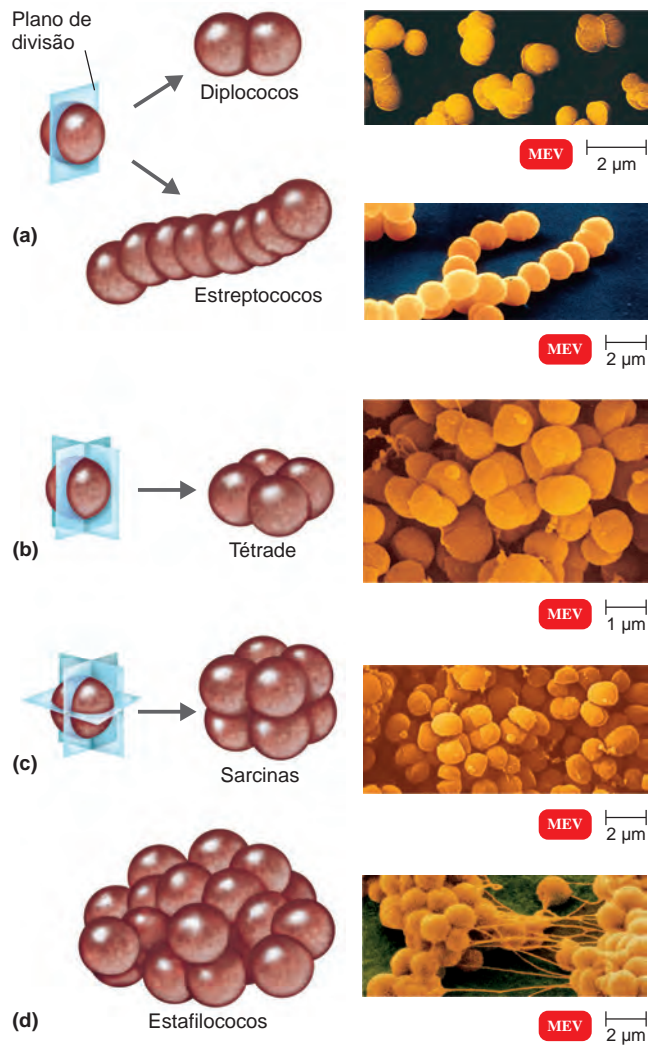



Figura 4.1 **Arranjos dos cocos.** **(a)** A divisão em um plano produz diplococos e estreptococos. **(b)** A divisão em dois planos produz tétrades. **(c)** A divisão em três planos produz sarcinas e **(d)** A divisão em múltiplos planos produz estafilococos.

P **Por que os planos de divisão determinam os arranjos das células?**

cem ligados uns aos outros em forma de cadeia são chamados de **estreptococos** (Figura 4.1a). Aqueles que se dividem em dois planos e permanecem em grupos de quatro são conhecidos como **tétrades** (Figura 4.1b). Aqueles que se dividem em três planos e permanecem unidos em forma de cubo, com oito bactérias, são chamados de **sarcinas** (Figura 4.1c). Aqueles que se dividem em múltiplos planos e formam agrupamentos tipo cacho de uva ou lâminas amplas são chamados de **estafilococos** (Figura 4.1d). Essas características do grupo frequentemente são úteis na identificação de certos cocos.

Os bacilos se dividem somente ao longo de seu eixo curto; portanto, existe menor número de agrupamentos de bacilos que de cocos. A maioria dos bacilos se apresenta como bastonetes simples (Figura 4.2a). Os **diplobacilos** se apresentam em pares após a divisão (Figura 4.2b) e os **estreptobacilos** ocorrem em cadeias (Figura 4.2c). Alguns bacilos possuem a aparência de "canudinhos". Outros

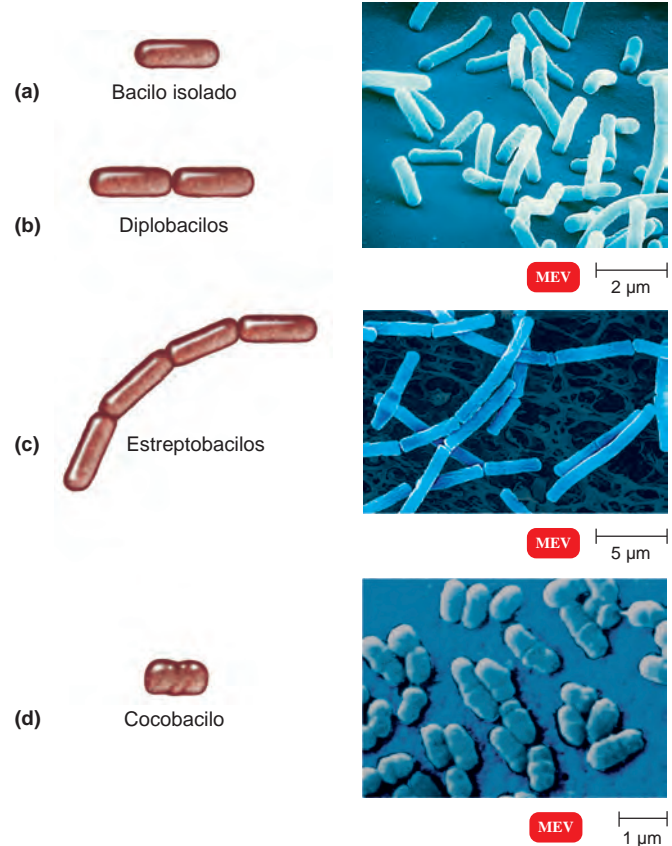



Figura 4.2 **Bacilos.** **(a)** Bacilo isolado. **(b)** Diplobacilos. Na micrografia do alto, alguns pares de bacilos unidos servem como exemplo de diplobacilos. **(c)** Estreptobacilos. **(d)** Cocobacilos.

P **Por que os bacilos não formam tétrades ou agrupamentos?**

possuem extremidades cônicas, como charutos. Outros ainda são ovais e tão parecidos com os cocos que são chamados de **cocobacilos** (Figura 4.2d).

O nome "bacilo" possui dois significados em microbiologia. Como acabamos de utilizar, a palavra bacilo se refere à forma bacteriana. Quando escrito em latim, em letra maiúscula e em itálico, refere-se a um gênero específico. Por exemplo, a bactéria *Bacillus anthracis* é o agente do antraz. As células dos bacilos geralmente possuem a forma de cadeias longas e curvadas (Figura 4.3).

Figura 4.3 **Uma hélice dupla formada por *Bacillus subtilis*.**

P **Qual a diferença entre os termos bacilos e *Bacillus*?**

As bactérias espirais possuem uma ou mais curvaturas; elas nunca são retas. As bactérias que se assemelham a bastões curvos são chamadas de **vibriões** (Figura 4.4a). Outras, denominadas **espirilos**, possuem uma forma helicoidal, como um saca-rolha, e um corpo bastante rígido (Figura 4.4.b). Já outro grupo de espirais tem forma helicoidal e flexível, sendo chamado de **espiroqueta** (Figura 4.4c). Ao contrário dos espirilos, que utilizam um apêndice para se mover, semelhante a uma hélice e chamado de flagelo, as espiroquetas se movem por meio de filamentos axiais, os quais lembram um flagelo, mas estão contidos dentro de uma bainha externa flexível.

Além das três formas básicas, existem células com formato de estrela (gênero *Stella*; Figura 4.5a), células retangulares e planas (arquibactérias halofílicas) do gênero *Haloarcula* (Figura 4.5b) e células triangulares.

A forma de uma bactéria é determinada pela hereditariedade. Geneticamente, a maioria das bactérias é, **monomórfica**, ou seja, mantém uma forma única. Entretanto, uma série de condições ambientais pode alterar sua forma, que, quando alterada, dificulta uma identificação. Além disso, algumas bactérias, como o *Rhizobium* e a *Corynebacterium*, são geneticamente **pleomórficas**, o que significa que elas podem ter muitas formas, não somente uma.

A estrutura de uma célula procariótica típica é mostrada na Figura 4.6. Discutiremos seus componentes de acordo com a seguinte organização: (1) estruturas externas da parede celular, (2) a parede celular propriamente dita e (3) estruturas internas da parede celular.

Figura 4.4 Bactérias espirais. (a) Vibriões. **(b)** Espirilos. **(c)** Espiroquetas.

P Qual é a característica marcante das bactérias espiroquetas?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como você identificaria estreptococos com o uso de um microscópio? **4-2**

Estruturas externas à parede celular

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

4-3 Descrever a estrutura e a função do glicocálice

4-4 Diferenciar flagelos, filamentos axiais, fímbrias e *pili*.

Entre as possíveis estruturas externas da parede extracelular dos procariotos estão o glicocálice, os flagelos, os filamentos, as axiais, as fímbrias e *pili*.

Glicocálice

Muitos procariotos secretam na sua superfície uma substância denominada glicocálice. **Glicocálice** (significando revestimento de açúcar) é o termo geral usado para as substâncias que envolvem as células. O glicocálice bacteriano é um polímero viscoso e gelatinoso que está situado externamente à parede celular e é composto de polissacarídeo, polipeptídeo ou ambos. Sua composição química varia amplamente entre as espécies. Em grande parte, ele é produzido dentro da célula e secretado para a superfície celular. Se a substância é organizada e está firmemente aderida à parede celular, o glicocálice é descrito como uma **cápsula**. A presença de uma cápsula pode ser determinada utilizando uma coloração negativa, descrita no Capítulo 3 (veja a Figura 3.14, página 72). Se a substância não é organizada e está fracamente ade-

Figura 4.5 Procariotos em forma de estrela e retangulares. (a) *Stella* (formato de estrela). **(b)** *Haloarcula*, um gênero de arquibactéria halofílica (células retangulares).

P Quais as formas comuns das bactérias?

Figura 4.6

FIGURA FUNDAMENTAL A estrutura de uma célula procariótica

Esta célula procariótica mostra estruturas típicas que podem ser encontradas em bactérias. Cada uma das estruturas marcadas será discutida individualmente neste capítulo. Como você viu nos capítulos anteriores, algumas das estruturas contribuem para a virulência bacteriana, possuem um papel na sua identificação e são alvo de agentes antimicrobianos.

Observe que nem todas as bactérias possuem todas as estruturas mostradas. As estruturas marcadas em **vermelho** são encontradas em todas as bactérias. O desenho e a micrografia mostram a bactéria seccionada transversalmente para revelar a composição interna.

Conceito-chave

As células procarióticas não possuem organelas envolvidas por membrana. Todas as bactérias possuem citoplasmas, ribossomos, uma membrana plasmática e um nucleoide. A maioria das bactérias possui paredes celulares.

rida à parede celular, o glicocálice é descrito como uma **camada viscosa**.

Em certas espécies, as cápsulas são importantes para a contribuição da virulência bacteriana (medida do grau com que um patógeno causa doença). As cápsulas frequentemente protegem as bactérias patogênicas da fagocitose pelas células do hospedeiro (como você verá mais tarde, a fagocitose é a ingestão e a digestão dos micro-organismos e de outras partículas sólidas). Por exemplo, o *Bacillus anthracis* produz uma cápsula de ácido D-glutâmico (lembre-se que, como mostrado no Capítulo 2, as formas D dos aminoácidos são incomuns). Uma vez que somente *B. anthracis* encapsulado causa o antraz (carbúnculo), especula-se que a cápsula pode impedir sua destruição pela fagocitose.

Outro exemplo envolve o *Streptococcus pneumoniae,* que causa pneumonia somente quando as células são protegidas por uma cápsula de polissacarídeo. As células não encapsuladas de *S. pneumoniae* não podem causar pneumonia e são rapidamente fagocitadas. A cápsula de polissacarídeo da *Klebsiella pneumoniae* também impede a

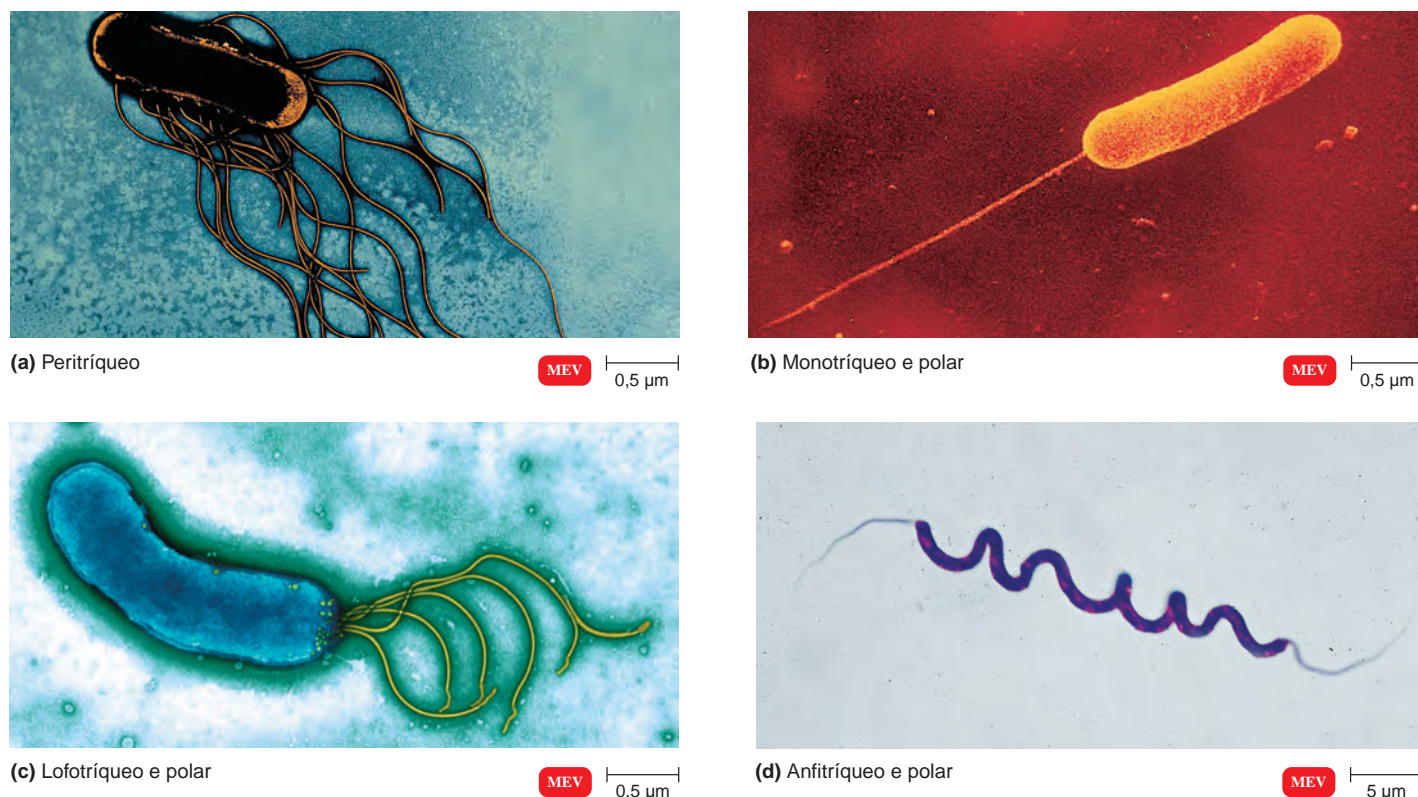



Figura 4.7 **Arranjos de flagelos bacterianos.** **(a)** Peritríqueo. **(b)** – **(d)** Polar.

P **Quais são algumas das principais diferenças e similaridades entre flagelos e endoflagelos?**

fagocitose e permite a esta bactéria aderir-se ao trato respiratório e colonizá-lo.

O glicocálice é um componente muito importante dos biofilmes (veja a página 162). Um glicocálice que auxilia as células em um biofilme a se fixarem ao seu ambiente-alvo e umas às outras é denominado **substância polimérica extracelular** (SPE). A SPE protege as células dentro do glicocálice, facilita a comunicação entre as células e permite a sobrevivência celular pela fixação a várias superfícies em seu ambiente natural. Por meio da fixação, as bactérias podem crescer em diversas superfícies, como pedras em rios com correnteza rápida, raízes de plantas, dentes humanos, implantes médicos, canos de água e até mesmo em outras bactérias. O *Streptococcus mutans*, um importante causador de cárie dentária, fixa-se na superfície dos dentes por um glicocálice. O *S. mutans* pode usar sua cápsula como fonte de nutrição degradando-a e utilizando os açúcares quando os estoques de energia estão baixos. *Vibrio cholerae*, a bactéria causadora do cólera, produz um glicocálice que facilita a sua ligação às células do intestino delgado. Um glicocálice também pode proteger uma célula contra a desidratação, e sua viscosidade pode inibir o movimento dos nutrientes para fora da célula.

Flagelos

Algumas células procarióticas possuem **flagelos**, que são longos apêndices filamentosos que propelem as bactérias. As bactérias sem flagelos são denominadas **atríqueas** (sem projeções). Os flagelos podem ser **peritríqueos** (distribuídos ao longo de toda a célula; **Figura 4.7a**) ou **polares** (em um ou ambos os polos da célula). Se for polar, o flagelo pode ser **monotríqueo** (um único flagelo em um polo; **Figura 4.7b**), **lofotríqueo** (um tufo de flagelo na extremidade da célula; **Figura 4.7c**), ou **anfitríqueo** (flagelos em ambas as extremidades celulares; **Figura 4.7d**).

Um flagelo tem três partes básicas (**Figura 4.8**). A longa região mais externa, o *filamento*, tem diâmetro constante e contém a proteína globular *flagelina* (grosseiramente esférica), distribuída em várias cadeias que se entrelaçam e formam uma hélice em torno de um centro oco. Na maioria das bactérias, os filamentos não são cobertos por uma membrana ou bainha, como nas células eucarióticas. O filamento está aderido a um *gancho* ligeiramente mais largo, consistindo de uma proteína diferente. A terceira porção do flagelo é o *corpo basal*, que ancora o flagelo à parede celular e à membrana plasmática.

O corpo basal é composto de uma pequena haste central inserida em uma série de anéis. As bactérias gram-negativas contêm dois pares de anéis; o par externo está ancorado a várias porções da parede celular, e o par interno está ancorado à membrana plasmática. Nas bactérias gram-positivas, somente o par interno está presente. Como você verá posteriormente, os flagelos (e cílios) das células eucarióticas são mais complexos que os das células procarióticas.

Cada flagelo procariótico é uma estrutura helicoidal semirrígida que move a célula pela rotação do corpo basal. A rotação de

(a) As partes e a fixação de um flagelo de uma bactéria gram-negativa.

(b) As partes e a fixação de um flagelo de uma bactéria gram-positiva.

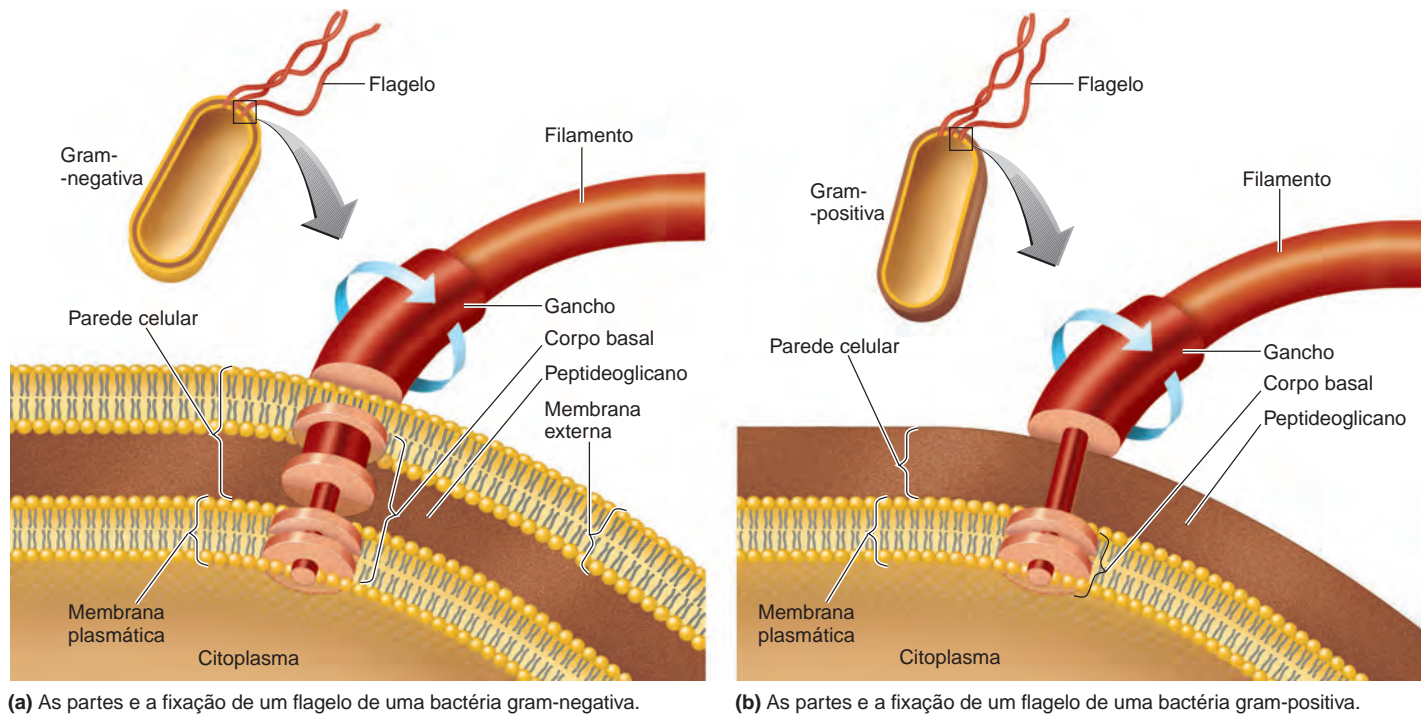



Figura 4.8 **A estrutura de um flagelo procariótico.** As partes e a fixação de um flagelo de uma bactéria gram-negativa e de uma bactéria gram-positiva são mostradas neste diagrama altamente esquemático.

P **Como os corpos basais das bactérias gram-negativas e gram-positivas diferem?**

um flagelo pode ter sentido horário ou anti-horário em torno de seu eixo longo. (Os flagelos eucarióticos, ao contrário, realizam um movimento ondulante.) O movimento de um flagelo procariótico resulta da rotação de seu corpo basal e é similar ao movimento da haste de um motor elétrico. À medida que os flagelos giram, formam um feixe que empurra o líquido circundante e propele a bactéria. A rotação flagelar depende da geração contínua de energia pela célula.

As células bacterianas podem alterar a velocidade e a direção de rotação dos flagelos; portanto, são capazes de vários padrões de **mobilidade**, a capacidade de um organismo de se mover por si próprio. Quando uma bactéria se move em uma direção por um período de tempo, o movimento é denominado "corrida" ou "nado". As corridas são interrompidas por alterações periódicas, abruptas e aleatórias na direção, denominadas "desvios". Então, a corrida recomeça. Os "desvios" são causados por uma inversão da rotação flagelar (**Figura 4.9a**). Algumas espécies de bactérias dotadas de muitos flagelos – *Proteus,* por exemplo (**Figura 4.9b**) – podem "deslizar", ou mostrar um movimento rápido ondulatório através de um meio de cultura sólido.

Uma vantagem da mobilidade é que ela permite a uma bactéria se mover em direção a um ambiente favorável ou para longe de um ambiente adverso. O movimento de uma bactéria para perto ou para longe de um estímulo particular é denominado **taxia**. Tais estímulos incluem os químicos (**quimiotaxia**) e a luz (**fototaxia**). As bactérias móveis contêm receptores em várias localizações, como dentro ou logo abaixo da parede celular. Esses receptores captam os estímulos químicos, como o oxigênio, a ribose e a galactose. Em resposta aos estímulos, a informação é passada para os flagelos. Se um sinal quimiotático é positivo, denominado *atraente*, as bactérias se movem em direção ao estímulo com muitas corridas e poucos desvios. Se um sinal quimiotático é negativo, denominado *repelente*, a frequência de desvios aumenta à medida que a bactéria se move para longe do estímulo.

A proteína flagelar **antígeno H** é útil para diferenciar entre os **sorovares**, ou variações dentro de uma espécie de bactérias gram-negativas (veja a página 310). Por exemplo, existem no mínimo 50 antígenos H diferentes para a *E. coli*. Aqueles sorovares identificados como *E. coli* O157:H7 estão associados a epidemias de intoxicação alimentar (veja o Capítulo 1, página 20).

Filamentos axiais

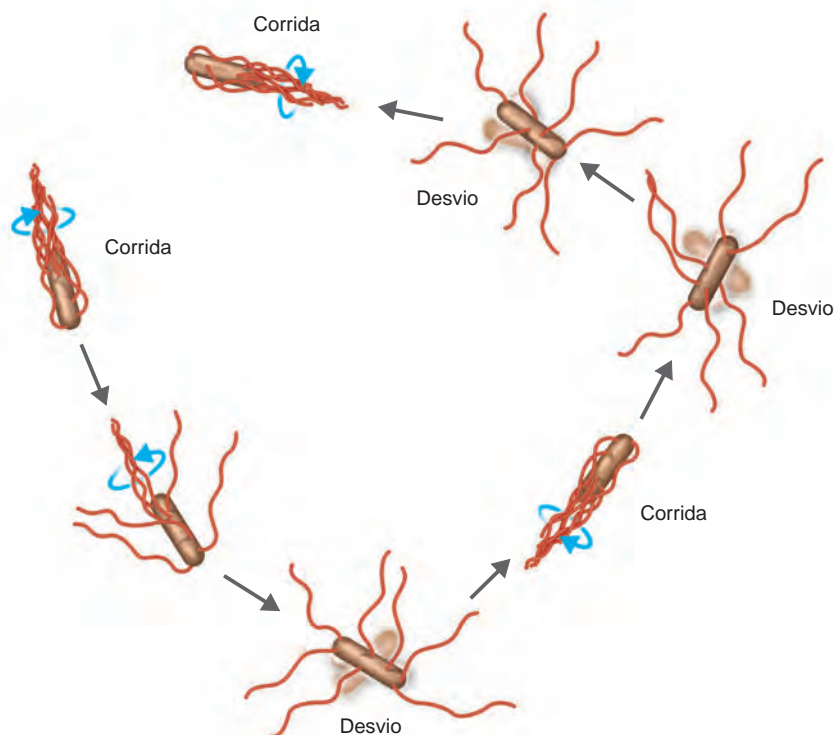
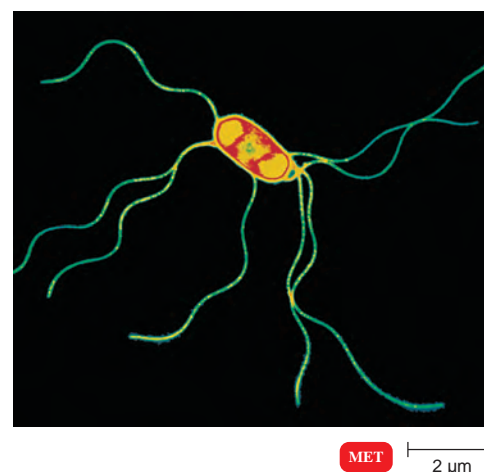
As espiroquetas são um grupo de bactérias que possuem estrutura e mobilidade exclusivas. Uma das espiroquetas mais conhecidas é o *Treponema pallidum*, o agente causador da sífilis. Outra espiroqueta é a *Borrelia burgdorferi*, o agente causador da doença de Lyme. As espiroquetas se movem por meio de **filamentos axiais** ou **endoflagelos**, feixes de fibrilas que se originam nas extremidades das células, sob uma bainha externa, e fazem uma espiral em torno da célula (**Figura 4.10**).

(a) Uma bactéria correndo e se desviando. Observe que a direção da rotação flagelar (setas azuis) determina qual movimento ocorreu. As setas cinzas determinam a direção do movimento do micróbio.

(b) Uma célula de *Proteus* no estágio populoso pode ter mais de mil flagelos peritríqueos.

Figura 4.9 Flagelos e mobilidade bacteriana.

P Os flagelos bacterianos empurram ou puxam as bactérias?

Os filamentos axiais, que estão ancorados em uma extremidade da espiroqueta, possuem uma estrutura similar à dos flagelos. A rotação dos filamentos produz um movimento da bainha externa que impulsiona as espiroquetas em um movimento espiral. Esse tipo de movimento é semelhante ao modo como um saca-rolhas se move através da rolha. Esse movimento tipo saca-rolhas provavelmente permite que bactérias como o *T. pallidum* movam-se efetivamente através dos fluidos corporais.

Fímbrias e *pili*

Muitas bactérias gram-negativas contêm apêndices semelhantes a pelos que são mais curtos, retos e finos que os flagelos e que são usados mais para fixação e transferência de DNA que para mobilidade. Essas estruturas, que consistem em uma proteína denominada *pilina*, distribuída de modo helicoidal em torno de um eixo central, são divididas em dois tipos, fímbrias e *pili*, possuindo funções muito diferentes. (Alguns microbiologistas usam os dois termos de maneira indiferenciada para se referir a essas estruturas, mas nós as diferenciamos.)

As **fímbrias** podem ocorrer nos polos da célula bacteriana, ou podem estar homogeneamente distribuídas em toda a superfície da célula. Elas podem variar em número, de algumas unidades a muitas centenas por célula (**Figura 4.11**). As fímbrias têm uma tendência a se aderir umas às outras e às superfícies. Como resultado, elas estão envolvidas na formação de biofilmes e outros agregados na superfície de líquidos, vidros e pedras. Por exemplo, as fímbrias da bactéria *Neisseria gonorrhoeae*, o agente causador da gonorreia, auxiliam o micróbio a colonizar as membranas mucosas. Uma vez que a colonização ocorre, as bactérias podem causar doença. Quando as fímbrias estão ausentes (devido à mutação genética), a colonização não pode ocorrer, e nenhuma doença aparece.

Os ***pili*** (singular: ***pilus***) normalmente são mais longos que as fímbrias, e há apenas um ou dois por célula. Os *pili* estão envolvidos na mobilidade celular e na transferência de DNA. Em um tipo de mobilidade da superfície bacteriana, denominada **translocação bacteriana**, o *pilus* é estendido pela adição de unidades de pilina, faz contato com a superfície ou com outras células e então se retrai à medida que as unidades de pilina vão sendo desmontadas. Esse modelo é denominado *modelo do gancho atracado* da mobilidade de translocação e resulta em movimentos curtos, abruptos e intermitentes. Esse movimento tem sido observado em *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae* e algumas linhas de *E. coli*. Outro tipo de movimento associado aos *pili* é a **mobilidade por deslizamento**, o movimento homogêneo de deslizamento das mixobactérias. Embora o mecanismo exato seja desconhecido para a maioria das mixobactérias, algumas utilizam a retração do *pilus*. A mobilidade por deslizamento fornece uma maneira para os micróbios viajarem nos ambientes com baixo conteúdo de água, como os biofilmes e o solo.

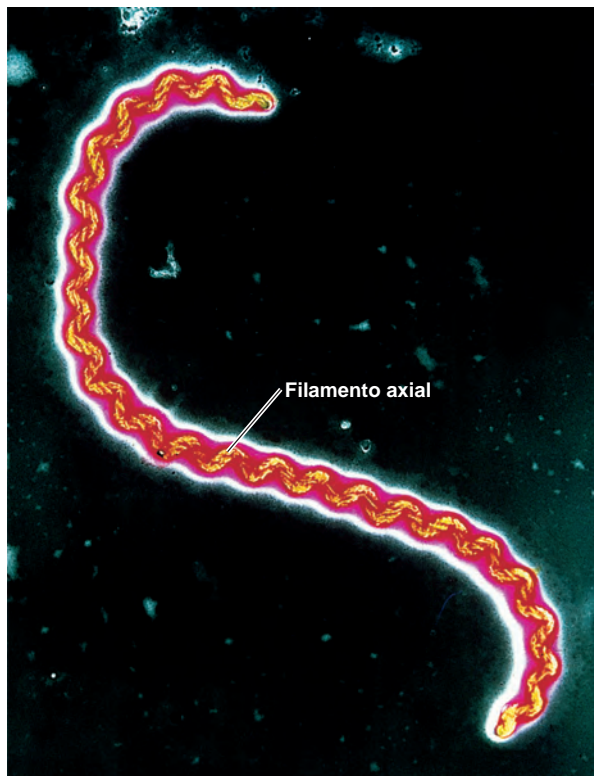
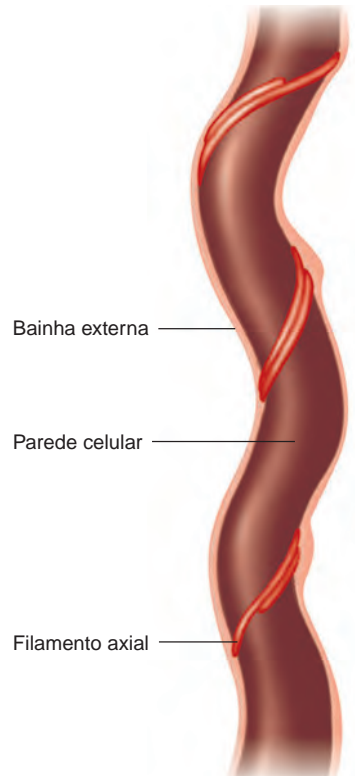
Alguns *pili* são utilizados para agregar as bactérias e facilitar a transferência de DNA entre elas, um processo chamado de con-

(a) Uma fotomicrografia da espiroqueta *Leptospira*, mostrando um filamento axial.

(b) Um diagrama de filamentos axiais enrolando-se em torno de uma parte de uma espiroqueta.

Figura 4.10 Filamentos axiais.

P Em que as espiroquetas e os espirilos diferem?

jugação. Estes *pili* são denominados ***pili* de conjugação (sexuais)** (veja a página 236). Nesse processo, o *pilus* de conjugação de uma bactéria chamada de célula F^+ conecta-se ao receptor na superfície de outra bactéria de sua própria espécie ou de espécies diferentes. As duas células fazem contato físico, e o DNA da célula F^+ é transferido para a outra célula. O DNA compartilhado pode adicionar uma nova função à célula receptora, como a resistência a um antibiótico ou a habilidade de degradar o seu meio com mais eficiência.

Fímbrias

MET 1 µm

Figura 4.11 Fímbrias. As fímbrias parecem pelos nesta célula de *E. coli*, que está começando a se dividir.

P Qual a função das fímbrias?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que as cápsulas bacterianas possuem importância médica? **4-3**

✓ Como as bactérias se movem? **4-4**

A parede celular

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

4-5 Comparar e diferenciar as paredes celulares de bactérias gram-positivas e gram-negativas, bactérias álcool-ácido resistentes, arquibactérias e micoplasmas.

4-6 Comparar e diferenciar arquibactérias e micoplasmas.

4-7 Diferenciar protoplasma, esferoplasma e forma L.

A **parede celular** de uma célula bacteriana é uma estrutura complexa, semirrígida, responsável pela forma da célula. A parede celular circunda a frágil membrana plasmática (membrana citoplasmática), protegendo-a e ao interior da célula das alterações adversas no ambiente externo (veja a Figura 4.6). Quase todos os procariotos possuem paredes celulares.

A principal função da parede celular é prevenir a ruptura das células bacterianas quando a pressão da água dentro da célula é

maior que fora dela (veja a Figura 4.18d, página 93). Ela também ajuda a manter a forma de uma bactéria e serve como ponto de ancoragem para os flagelos. À medida que o volume de uma célula bacteriana aumenta, sua membrana plasmática e parede celular se estendem conforme necessário. Clinicamente, a parede celular é importante, pois contribui para a capacidade de algumas espécies causarem doenças e também por ser o local de ação de alguns antibióticos. Além disso, a composição química da parede celular é usada para diferenciar os principais tipos de bactérias.

Embora as células de alguns eucariotos, incluindo plantas, algas e fungos, tenham paredes celulares, suas paredes diferem quimicamente daquelas dos procariotos, sendo mais simples estruturalmente e menos rígidas.

Composição e características

A parede celular bacteriana é composta de uma rede macromolecular denominada **peptideoglicana** (também conhecida como *mureína*), que está presente isoladamente ou em combinação com outras substâncias. A peptideoglicana consiste em um dissacarídeo repetitivo ligado por polipeptídeos para formar uma rede que circunda e protege toda a célula. A porção dissacarídica é composta de monossacarídeos denominados N-acetilglicosamina (NAG) e ácido N-acetilmurâmico (NAM) (de *murus*, significando parede), que estão relacionados à glicose. As fórmulas estruturais de NAG e NAM são mostradas na **Figura 4.12**.

Os vários componentes da peptideoglicana estão reunidos na parede celular (**Figura 4.13a**). Moléculas alternadas de NAM e NAG são ligadas em filas de 10 a 65 açúcares para formar um "esqueleto" de carboidratos (a porção glicana da peptideoglicana). Filas adjacentes são ligadas por **polipeptídeos** (a porção peptídica da peptideoglicana). Embora a estrutura da ligação polipeptídica possa variar, ela sempre inclui *cadeias laterais de tetrapeptídeos*, as quais consistem em quatro aminoácidos ligados ao NAM no esqueleto. Os aminoácidos ocorrem em um padrão alternado de formas D e L (veja a Figura 2.13, página 43). Este padrão é único, pois os aminoácidos encontrados em outras proteínas são formas L. As cadeias laterais paralelas de tetrapeptídeos podem ser ligadas diretamente umas às outras ou unidas por uma *ponte cruzada peptídica*, consistindo de uma cadeia curta de aminoácidos.

A penicilina interfere com a ligação final das filas de peptideoglicanas pelas pontes cruzadas peptídicas (veja a Figura 4.13a). Como resultado, a parede celular é muito enfraquecida e a célula sofre **lise**, uma destruição causada pela ruptura da membrana plasmática e pela perda de citoplasma.

Paredes celulares de gram-positivas

Na maioria das bactérias gram-positivas, a parede celular consiste em muitas camadas de peptideoglicana, formando uma estrutura espessa e rígida (**Figura 4.13b**). Em contraste, as paredes celulares de gram-negativas contêm somente uma camada fina de peptideoglicana (**Figura 4.13c**).

Além disso, as paredes celulares das bactérias gram-positivas contêm *ácidos teicoicos*, que consistem principalmente de um álcool (como o glicerol ou ribitol) e fosfato. Existem duas classes de ácidos teicoicos: *ácido lipoteicoico*, que atravessa a camada de peptideoglicana e está ligado à membrana plasmática, e *ácido teicoico da parede*, que está ligado à camada de peptideoglicana. Devido à sua carga negativa (proveniente dos grupos fosfato), os ácidos teicoicos podem se ligar e regular o movimento de cátions (íons positivos) para dentro e para fora da célula. Eles também podem assumir um papel no crescimento celular, impedindo a ruptura extensa da parede e a possível lise celular. Finalmente, os ácidos teicoicos fornecem boa parte da especificidade antigênica da parede e, portanto, tornam possível identificar bactérias gram-positivas utilizando determinados testes laboratoriais (veja o Capítulo 10). Da mesma forma, a parede celular dos estreptococos gram-positivos é recoberta com vários polissacarídeos que permitem que eles sejam agrupados em tipos clinicamente significativos.

Figura 4.12 N-acetilglicosamina (NAG) e ácido N-acetilmurâmico (NAM) unidos como na peptideoglicana. As áreas douradas mostram as diferenças entre as duas moléculas. A ligação entre elas é denominada ligação β-1,4.

P Que tipo de moléculas são estas: carboidratos, lipídeos ou proteínas?

Paredes celulares de gram-negativas

As paredes celulares das bactérias gram-negativas consistem em uma ou poucas camadas de peptideoglicana e uma membrana externa (veja a Figura 4.13c). A peptideoglicana está ligada a lipoproteínas (lipídeos covalentemente ligados a proteínas) na membrana externa e está no *periplasma*, um fluido semelhante a um gel, entre a membrana externa e a membrana plasmática. O periplasma contém uma alta concentração de enzimas de degradação e proteínas de transporte. As paredes celulares gram-negativas não contêm ácidos teicoicos. Como as paredes celulares das bactérias gram-negativas contêm somente uma pequena quantidade de peptideoglicana, são mais suscetíveis ao rompimento mecânico.

A *membrana externa* da célula gram-negativa consiste em lipopolissacarídeos (LPS), lipoproteínas e fosfolipídeos (veja a figura 4.13c). A membrana externa tem várias funções especializadas. Sua forte carga negativa é um fator importante na evasão da fagocitose e nas ações do complemento (causa lise de células e promove a fagocitose), dois componentes das defesas do hospedeiro (discutidos em detalhe no Capítulo 16). A membrana externa também fornece

Figura 4.13 **Paredes celulares bacterianas. (a)** A estrutura da peptideoglicana em bactérias gram-positivas. Juntos, o esqueleto de carboidrato (porção glicana) e as cadeias laterais tetrapeptídicas (porção peptídica) compõem a peptideoglicana. A frequência de pontes cruzadas peptídicas e o número de aminoácidos nessas pontes variam com a espécie de bactéria. As pequenas setas indicam onde a penicilina interfere com a ligação das fileiras de peptideoglicano por pontes cruzadas peptídicas. **(b)** Uma parede celular gram-positiva. **(c)** Uma parede celular gram-negativa.

P Quais são as principais diferenças estruturais entre as paredes celulares de gram-positivas e gram-negativas?

uma barreira para certos antibióticos (p. ex., penicilina), enzimas digestivas como a lisozima, detergentes, metais pesados, sais biliares e certos corantes.

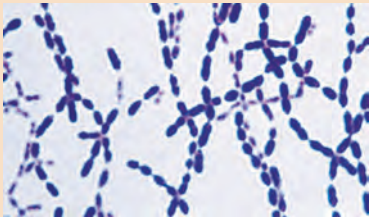
Entretanto, a membrana externa não fornece uma barreira para todas as substâncias no ambiente, pois os nutrientes devem atravessá-la para garantir o metabolismo celular. Parte da permeabilidade da membrana externa é devida a proteínas na membrana, denominadas **porinas**, que formam canais. As porinas permitem a passagem de moléculas como nucleotídeos, dissacarídeos, peptídeos, aminoácidos, vitamina B_{12} e ferro.

O **lipopolissacarídeo (LPS)** da membrana externa é uma molécula grande e complexa que contém lipídeos e carboidratos e que consiste em três componentes: (1) lipídeo A, (2) um cerne polissacarídico e (3) um polissacarídeo O. O **lipídeo A** é a porção lipídica do LPS e está embebido na parede superior da membrana externa. Quando bactérias gram-negativas morrem, elas liberam lipídeo A, que funciona como uma endotoxina (Capítulo 15). O lipídeo A é responsável pelos sintomas associados a bactérias gram-negativas, como febre, dilatação de vasos venosos, choque e formação de coágulos sanguíneos. O **cerne polissacarídico** é ligado ao lipídeo A e contém açúcares incomuns. Seu papel é estrutural – fornecer estabilidade. O **polissacarídeo O** se estende para fora do cerne polissacarídico e é composto por moléculas de açúcar. O polissacarídeo O funciona como um antígeno, sendo útil para diferenciar espécies de bactérias gram-negativas. Por exemplo, o patógeno alimentar *E. coli* O157:H7 é diferenciado dos outros sorovares por certos exames laboratoriais que procuram pelos antígenos específicos. Esse papel é comparável ao dos ácidos teicoicos nas células gram-positivas.

Paredes celulares e mecanismo da coloração de Gram

Agora que você estudou a coloração de Gram (no Capítulo 3, página 69) e a química da parede celular bacteriana (na seção anterior), é mais fácil compreender o mecanismo da coloração de Gram. Esse mecanismo tem como base as diferenças nas estruturas da parede celular das bactérias gram-positivas e gram-negativas e como cada uma dessas estruturas reage aos vários reagentes (substâncias utilizadas para produzir uma reação química). Cristal violeta, o corante primário, cora as células gram-positivas e gram-negativas de púrpura, pois penetra no citoplasma de ambos os tipos celulares. Quando o lugol, solução iodo-iodetada (o mordente), é aplicado, forma cristais com o corante que são muito grandes para escapar pela parede celular. A aplicação de álcool desidrata a peptideoglicana das células gram-positivas para torná-la mais impermeável ao cristal violeta-iodo. O efeito nas células gram-negativas é bem diferente; o álcool dissolve a membrana externa das células gram-negativas, deixando também pequenos buracos na fina camada de peptideoglicana, pelos quais o cristal violeta-iodo se difunde. Como as bactérias gram-negativas ficam incolores após a lavagem com álcool, a adição de safranina (contracorante) torna as células cor-de-rosa. A safranina fornece a cor contrastante à coloração primária (cristal violeta). Embora as células gram-positivas e gram-negativas absorvam a safranina, a coloração rosa da safranina é mascarada pelo corante roxo-escuro previamente absorvido pelas células gram-positivas.

Em qualquer população celular, algumas células gram-positivas apresentarão uma resposta gram-negativa. Essas células normalmente estão mortas. Entretanto, há alguns poucos gêneros gram-positivos que apresentam um número crescente de células gram-negativas à medida que a cultura envelhece. *Bacillus* e *Clostridium* são exemplos frequentemente descritos como *gram-variáveis*.

Uma comparação de algumas das características das bactérias gram-positivas e gram-negativas é apresentada na **Tabela 4.1**.

Paredes celulares atípicas

Entre os procariotos, certos tipos de células não possuem paredes ou têm pouco material de parede. Eles incluem os membros do gênero *Mycoplasma* e organismos relacionados (veja a Figura 11.20 na página 319). Os micoplasmas são as menores bactérias conhecidas que podem crescer e se reproduzir fora de células vivas de hospedeiros. Devido ao seu tamanho e por não terem paredes celulares, passam através da maioria dos filtros bacterianos, tendo sido inicialmente confundidos com vírus. Suas membranas plasmáticas são únicas entre as bactérias por possuírem lipídeos denominados *esteróis*, os quais podem protegê-las da lise (ruptura).

As arquibactérias podem não ter paredes ou ter paredes incomuns compostas de polissacarídeos e proteínas, mas não de peptideoglicana. Essas paredes, entretanto, contêm uma substância similar à peptideoglicana, denominada *pseudomureína*. A pseudomureína contém ácido N-acetiltalosaminurônico em vez de NAM, e não possui os D-aminoácidos encontrados nas paredes celulares bacterianas. As arquibactérias geralmente não podem ser coradas pelo gram, mas aparentam ser gram-negativas por não conterem peptideoglicana.

Paredes celulares álcool-ácido resistentes

Como visto no Capítulo 3, a coloração álcool-ácido resistente é usada para identificar todas as bactérias do gênero *Mycobacterium* e espécies patogênicas de *Nocardia*. Essas bactérias contêm alta concentração (60%) de um lipídeo céreo hidrofóbico (**ácido micólico**) em sua parede que previne a entrada dos corantes, incluindo os utilizados na coloração de Gram. O ácido micólico forma uma parede externa a uma camada fina de peptideoglicana. O ácido micólico e a peptideoglicana são unidos por um polissacarídeo. A parede hidrofóbica cérea das células induz as culturas de *Mycobacterium* a se agregar e aderir às paredes do frasco de cultura. Bactérias álcool-ácido resistentes podem ser coradas com carbolfucsina; o aquecimento aumenta a penetração do corante. A carbolfucsina penetra na parede celular, liga-se ao citoplasma e resiste à remoção por lavagem com álcool-ácido. Bactérias álcool-ácido resistentes retêm a cor vermelha da carbolfucsina, pois esta substância é mais solúvel no ácido micólico da parede celular que no álcool-ácido. Se a parede de ácido micólico for removida, estas bactérias irão se corar, pela coloração de Gram, como gram-positivas.

Tabela 4.1 Algumas características comparativas das bactérias gram-positivas e gram-negativas

Característica	Gram-Positiva	Gram-Negativa
	MO 4 µm	MO 4 µm
Reação de Gram	Retém o corante cristal violeta e cora-se de violeta-escuro ou púrpura	Pode ser descorada e aceitar o contracorante (safranina) e cora-se de rosa ou vermelho
Parede de peptideoglicana	Espessa (camadas múltiplas)	Fina (camada única)
Ácidos teicoicos	Presentes em muitas	Ausentes
Espaço periplasmático	Ausente	Presente
Membrana externa	Ausente	Presente
Conteúdo de lipopolissacarídeo (LPS)	Nenhum	Alto
Conteúdo de lipídeos e lipoproteínas	Baixo (as bactérias álcool-ácido resistentes possuem lipídeos ligados à peptideoglicana)	Alto (devido à presença da membrana externa)
Estrutura flagelar	Dois anéis no corpo basal	Quatro anéis no corpo basal
Toxinas produzidas	Exotoxinas	Endotoxinas e exotoxinas
Resistência à ruptura física	Alta	Baixa
Ruptura da parede celular por lisozimas	Alta	Baixa (requer tratamento para desestabilizar a membrana externa)
Sensibilidade à penicilina e às sulfonamidas	Alta	Baixa
Sensibilidade à estreptomicina, ao cloranfenicol e à tetraciclina	Baixa	Alta
Inibição por corantes básicos	Alta	Baixa
Sensibilidade a detergentes aniônicos	Alta	Baixa
Resistência à azida sódica	Alta	Baixa
Resistência ao ressecamento	Alta	Baixa

Dano à parede celular

As substâncias químicas que danificam a parede celular bacteriana ou interferem com sua síntese frequentemente não danificam as células de um hospedeiro animal, pois a parede celular bacteriana é composta de substâncias diferentes daquelas presentes nas células eucarióticas. Portanto, a síntese da parede celular é o alvo de algumas drogas antimicrobianas. Um meio pelo qual a parede celular pode ser danificada é pela exposição à enzima digestiva *lisozima*. Essa enzima ocorre naturalmente em algumas células eucarióticas, sendo um constituinte das lágrimas, do muco e da saliva. A lisozima é particularmente ativa sobre os principais componentes da parede celular da maioria das bactérias gram-positivas, tornando-as vulneráveis à lise. A lisozima catalisa a hidrólise das pontes entre os açúcares nos dissacarídeos repetitivos do "esqueleto" de peptideoglicana. Essa ação é análoga a cortar os cabos de aço que suportam uma ponte: a parede celular gram-positiva é destruída quase completamente pela lisozima. O conteúdo celular que permanece circundado pela membrana plasmática pode ficar intacto se a lise não ocorrer; essa célula sem parede é denominada **protoplasto**. Tipicamente, um protoplasto é esférico e capaz de realizar metabolismo.

Alguns membros do gênero *Proteus*, bem como de outros gêneros, podem perder sua parede celular e transformar-se em células de formato irregular chamadas de **formas L**, assim denominadas pelo Instituto Lister em Londres, onde foram descobertas. Elas podem ser formadas espontaneamente ou desenvolvidas em resposta à penicilina (que inibe a formação da parede celular) ou à lisozima (que remove a parede celular). Formas L podem viver e se dividir repetidamente ou retornar ao estado delimitado pela parede.

Quando a lisozima é aplicada em células gram-negativas, normalmente a parede não é destruída na mesma extensão que em células gram-positivas; parte da membrana externa também permanece. Nesse caso, o conteúdo celular, a membrana plasmática e a camada restante da parede externa são denominados **esferoplasto**, também uma estrutura esférica. Para a lisozima exercer seu efeito sobre as células gram-negativas, essas são tratadas primeiramente com ácido etilenodiaminatetracético (EDTA). O EDTA enfraquece as ligações iônicas na membrana externa, produzindo assim lesões na mesma, fornecendo acesso para a lisozima à camada de peptideoglicana.

Os protoplastos e os esferoplastos se rompem em água pura ou em soluções muito diluídas de sal ou açúcar, pois as moléculas de água do líquido circundante movem-se rapidamente para dentro e aumentam a célula, que possui uma concentração interna de água muito menor. Essa ruptura é denominada **lise osmótica**, e será discutida em detalhes em breve.

Conforme mencionado anteriormente, certos antibióticos como a penicilina destroem as bactérias interferindo com a formação das ligações cruzadas peptídicas da peptideoglicana, impedindo, assim, a formação de uma parede celular funcional. A maioria das bactérias gram-negativas não é tão sensível à penicilina quanto as bactérias gram-positivas, pois a membrana externa das bactérias gram-negativas forma uma barreira que inibe a entrada dessa e de outras substâncias, e as bactérias gram-negativas possuem menos ligações cruzadas peptídicas. Contudo, as bactérias gram-negativas são bastante suscetíveis a alguns antibióticos β-Lactâmicos, que penetram na membrana externa melhor que a penicilina. Os antibióticos serão detalhadamente discutidos no Capítulo 20.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que as drogas que utilizam como alvo a síntese da parede celular são úteis? **4-5**
- ✓ Por que os micoplasmas são resistentes aos antibióticos que interferem com a síntese da parede celular? **4-6**
- ✓ Como os protoplastos diferem das formas L? **4-7**

Estruturas internas à parede celular

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

4-8 Descrever a estrutura, a composição química e as funções da membrana plasmática procariótica.

4-9 Definir difusão simples, difusão facilitada, osmose, transporte ativo e translocação de grupo.

4-10 Identificar as funções do nucleoide e dos ribossomos.

4-11 Identificar as funções de quatro inclusões.

4-12 Descrever as funções dos endosporos, da esporulação e da germinação do endosporo.

Até agora discutimos a parede celular procariótica e as estruturas externas a ela. Veremos agora o interior da célula procariótica e discutiremos as estruturas e as funções da membrana plasmática e de outros componentes dentro do citoplasma celular.

A membrana plasmática (citoplasmática)

A **membrana plasmática (citoplasmática)** (ou *membrana interna*) é uma estrutura fina situada no interior da parede celular, revestindo o citoplasma da célula (veja a Figura 4.6). A membrana plasmática dos procariotos consiste principalmente de fosfolipídeos (veja a Figura 2.10, página 42), que são as substâncias químicas mais abundantes na membrana, e proteínas. As membranas plasmáticas eucarióticas também contêm carboidrato e esteróis, como o colesterol. Como não possuem esteróis, as membranas plasmáticas procarióticas são menos rígidas que as membranas eucarióticas. Uma exceção é o procarioto sem parede *Mycoplasma,* que contém esteróis na membrana.

Estrutura

Em micrografias eletrônicas, as membranas plasmáticas procarióticas e eucarióticas (e as membranas externas das bactérias gram-negativas) parecem estruturas de camada dupla; existem duas linhas escuras com um espaço claro entre elas (**Figura 4.14a**). As moléculas de fosfolipídeos estão distribuídas em duas linhas paralelas, denominadas *bicamada lipídica* (**Figura 4.14b**). Como foi apresentado no Capítulo 2, cada molécula de fosfolipídeo contém uma cabeça polar, composta de um grupo fosfato e glicerol que é hidrofílico (amigo da água) e solúvel em água, e caudas apolares, compostas de ácidos graxos que são hidrofóbicos (temem a água) e insolúveis em água (**Figura 4.14c**). As cabeças polares estão nas duas superfícies da bicamada lipídica, e as caudas apolares estão no interior da bicamada.

As moléculas proteicas na membrana podem estar arranjadas em uma variedade de formas. Algumas, denominadas *proteínas periféricas*, são facilmente removidas da membrana por tratamentos leves e ficam situadas na superfície interna ou externa da membrana. Elas podem funcionar como enzimas que catalisam reações químicas, como um "andaime" para suporte e como mediadoras das alterações na forma da membrana durante o movimento. Outras proteínas, denominadas *proteínas integrais*, podem ser removidas da membrana somente após romper a bicamada lipídica (pelo uso de detergentes, p. ex.). A maioria das proteínas integrais penetra a membrana completamente, sendo chamadas de *proteínas transmembrana*. Algumas proteínas integrais são canais que possuem um poro ou um buraco pelo qual as substâncias entram e saem da célula.

Muitas das proteínas e alguns dos lipídeos na superfície externa da membrana plasmática possuem carboidratos ligados a eles. As proteínas ligadas aos carboidratos são denominadas **glicoproteínas**; os lipídeos ligados aos carboidratos são denominados **glicolipídeos**. Ambos ajudam a proteger e lubrificar a célula e estão envolvidos nas interações célula-a-célula. Por exemplo, as

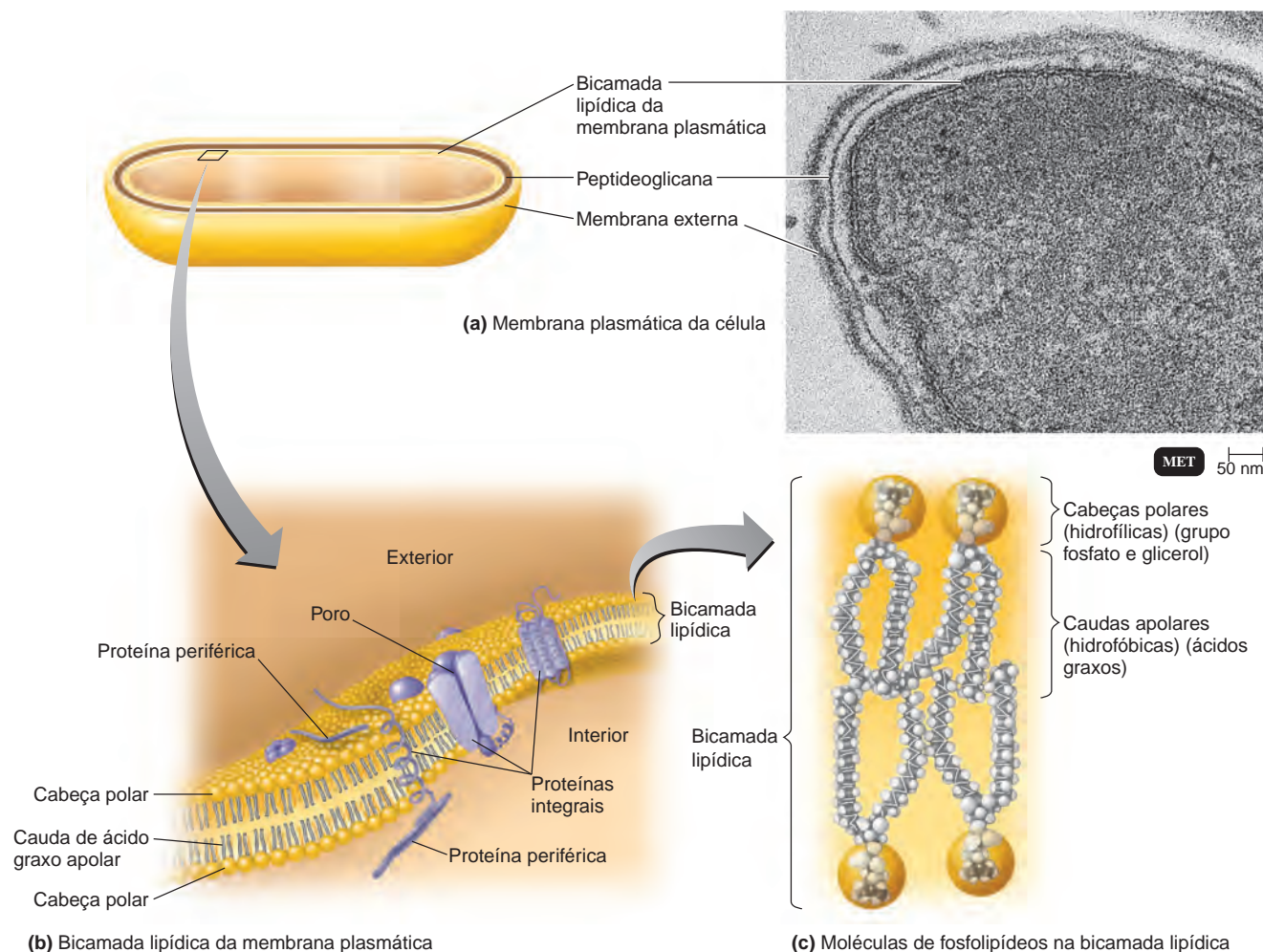



Figura 4.14 Membrana plasmática. **(a)** Um diagrama e micrografia mostrando a bicamada lipídica formando a membrana plasmática interna da bactéria gram-negativa *Aquaspirillum serpens*. As camadas da parede celular, incluindo a membrana externa, podem ser vistas fora da membrana interna. **(b)** Uma porção da membrana interna, mostrando a bicamada lipídica e as proteínas. A membrana externa das bactérias gram-negativas também é uma camada dupla de fosfolipídeo. **(c)** Modelos tridimensionais de várias moléculas como estão distribuídas na bicamada lipídica.

P Como é a ação das polimixinas nas membranas plasmáticas?

glicoproteínas possuem um papel em certas doenças infecciosas. O vírus influenza e as toxinas que causam a cólera e o botulismo penetram suas células-alvo inicialmente por se ligarem às glicoproteínas contidas em suas membranas plasmáticas.

Alguns estudos demonstraram que as moléculas de fosfolipídeo e proteína nas membranas não são estáticas, mas se movem com certa liberdade na superfície da membrana. É provável que esse movimento esteja associado às muitas funções realizadas pela membrana plasmática. Como as caudas dos ácidos graxos se mantêm aderidas, os fosfolipídeos, em presença de água, formam uma camada dupla autosselante; assim, rupturas e fissuras na membrana fecham por si mesmas. A membrana deve ser tão viscosa quanto o azeite de oliva para permitir que as proteínas da membrana se movam de modo livre o suficiente para realizar suas funções, sem destruir a estrutura da membrana. Esse arranjo dinâmico de fosfolipídeo e proteína é denominado **modelo do mosaico fluido**.

Funções

A função mais importante da membrana plasmática é servir como uma barreira seletiva através da qual os materiais entram e saem da célula. Nessa função, as membranas plasmáticas possuem **permeabilidade seletiva** (algumas vezes denominada *semipermeabilidade*). Este termo indica que certas moléculas e íons passam através da membrana, mas outros são impedidos de passar através dela. A permeabilidade da membrana depende de vários fatores. As mo-

léculas grandes (como as proteínas) não podem passar através da membrana plasmática, possivelmente por serem maiores que os poros nas proteínas integrais, os quais funcionam como canais. Porém, as moléculas menores (como a água, o oxigênio, o dióxido de carbono e alguns açúcares simples) em geral conseguem atravessá-la com facilidade. Os íons penetram na membrana muito lentamente. As substâncias que se dissolvem facilmente em lipídeos (como o oxigênio, o dióxido de carbono e as moléculas orgânicas apolares) entram e saem com mais facilidade que outras substâncias, pois a membrana é composta principalmente de fosfolípides. O movimento de materiais através das membranas plasmáticas também depende de moléculas transportadoras, que serão descritas em breve.

As membranas plasmáticas também são importantes na digestão de nutrientes e na produção de energia. As membranas plasmáticas das bactérias contêm enzimas capazes de catalisar as reações químicas que degradam os nutrientes e produzem ATP. Em algumas bactérias, os pigmentos e as enzimas envolvidos na fotossíntese são encontrados em invaginações da membrana plasmática que se estendem ao citoplasma. Essas estruturas membranosas são denominadas **cromatóforos** ou **tilacoides** (**Figura 4.15**).

Quando examinadas ao microscópio eletrônico, as membranas plasmáticas bacterianas frequentemente parecem conter uma ou mais invaginações grandes e irregulares denominadas **mesossomos**. Muitas funções foram propostas para os mesossomos. Entretanto, agora se sabe que eles são artefatos, e não estruturas celulares verdadeiras. Acredita-se que os mesossomos sejam dobras na membrana plasmática que se desenvolvem devido ao processo usado para preparar amostras para microscopia eletrônica.

Destruição da membrana plasmática por agentes antimicrobianos

Uma vez que a membrana plasmática é vital para a célula bacteriana, não é surpreendente que muitos agentes antimicrobianos exerçam seus efeitos neste sítio. Além das substâncias químicas que danificam a parede celular e assim expõem indiretamente a membrana à lesão, muitos compostos danificam especificamente as membranas plasmáticas. Esses compostos incluem certos alcoóis e compostos de amônio quaternário, usados como desinfetantes. Por romper os fosfolipídeos de membrana, um grupo de antibióticos conhecido como *polimixinas* produz o vazamento do conteúdo intracelular e a subsequente morte celular. Esse mecanismo será discutido no Capítulo 20.

O movimento de materiais através das membranas

Os materiais se movem através das membranas plasmáticas de ambas as células procarióticas e eucarióticas por dois tipos de processos: passivo e ativo. Nos *processos passivos*, as substâncias atravessam a membrana de uma área de alta concentração para uma área de baixa concentração (se movem a favor do gradiente de concentração, ou diferença), sem qualquer gasto de energia (ATP) pela célula. Nos *processos ativos*, a célula deve usar energia (ATP) para mover as substâncias das áreas de baixa concentração para as áreas de alta concentração (contra o gradiente de concentração).

Figura 4.15 **Cromatóforos.** Nessa micrografia do *Rhodospirillum rubrum*, uma bactéria púrpura (não sulfurosa), os cromatóforos são claramente visíveis.

P **Qual a função dos cromatóforos?**

Processos passivos Os processos passivos incluem a difusão simples, a difusão facilitada e a osmose.

A **difusão simples** é a rede (geral) de movimento das moléculas ou dos íons de uma área de alta concentração para uma área de baixa concentração (**Figura 4.16** e **Figura 4.17a**). O movimento continua até que as moléculas ou os íons sejam distribuídos uniformemente. O ponto de distribuição uniforme é denominado *equilíbrio*. As células utilizam a difusão simples para transportar certas moléculas pequenas, como o oxigênio e o dióxido de carbono, através de suas membranas celulares.

Na **difusão facilitada**, as proteínas integrais de membrana funcionam como canais ou carreadores que facilitam o movimento de íons ou grandes moléculas através da membrana plasmática. Estas proteínas integrais são denominadas *proteínas transportadoras* ou *permeases*. A difusão facilitada é similar à difusão simples no sentido de que a célula *não* gasta energia, uma vez que a substância se move de uma concentração alta para uma concentração baixa. O processo difere da difusão simples pelo uso das proteínas transportadoras, que permitem a passagem da maioria dos pequenos íons inorgânicos, os quais são muito hidrofílicos para penetrar o interior apolar da bicamada lipídica (**Figura 4.17b**). Essas proteínas transportadoras, que são comuns em procariotos, são inespecíficas e permitem a passagem de uma grande variedade de íons (ou até de pequenas moléculas). Outras proteínas transportadoras, que são comuns em eucariotos, são específicas e transportam somente moléculas específicas, geralmente de grande tamanho, como açúcares simples (glicose, frutose e galactose) e vitaminas. Neste processo, a substância transportada liga-se a uma proteína transportadora específica na superfície externa da membrana plasmática, a qual sofre

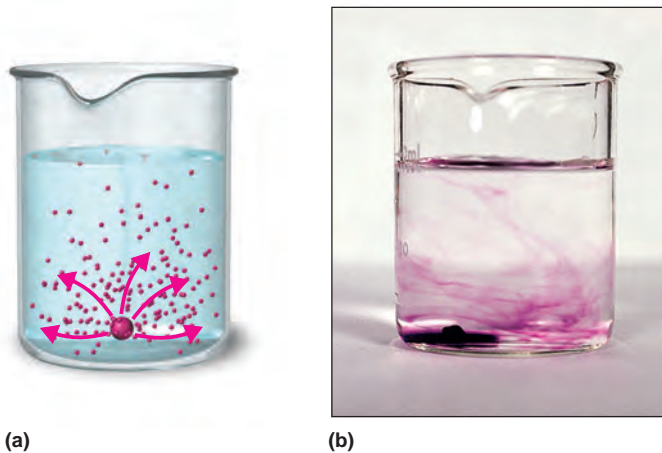



Figura 4.16 O princípio da difusão simples. (a) Após uma pastilha de corante ser colocada em um recipiente com água, as moléculas de corante na pastilha se difundem na água, de uma área de alta concentração de corante para as áreas de baixa concentração de corante. **(b)** Corante permanganato de potássio no processo de difusão.

P Qual é a característica que distingue um processo passivo?

uma mudança de formato; então, a proteína libera a substância do outro lado da membrana (**Figura 4.17c**).

Em alguns casos, as moléculas que as bactérias necessitam são muito grandes para serem transportadas para a célula por estes métodos. Porém, a maioria das bactérias produz enzimas que podem degradar as moléculas grandes em moléculas mais simples (como proteínas em aminoácidos ou polissacarídeos em açúcares simples). Essas enzimas, que são liberadas pelas bactérias no meio circundante, são apropriadamente denominadas *enzimas extracelulares*. Uma vez que as enzimas degradam as moléculas grandes, as subunidades se movem para dentro da célula com o auxílio de transportadores. Por exemplo, os transportadores específicos recuperam as bases de DNA, como a purina guanina, do meio extracelular e trazem-nas para o citoplasma da célula.

Osmose é a rede de movimento de moléculas de solvente através de uma membrana seletivamente permeável, de uma área de alta concentração de moléculas de solvente (baixa concentração de moléculas de soluto) para uma área de baixa concentração de moléculas de solvente (alta concentração de moléculas de soluto). Nos sistemas vivos, o principal solvente é a água. Moléculas de água passam pela membrana plasmática se movendo através da bicamada lipídica por difusão simples ou através das proteínas integrais de membrana, chamadas de *aquaporinas*, que funcionam como canais de água (**Figura 4.17d**).

A osmose pode ser demonstrada com o sistema mostrado na **Figura 4.18a**. Um saco de celofane, que é uma membrana seletivamente permeável, é preenchido com uma solução de sacarose (açúcar de mesa) a 20%. O saco de celofane é colocado em um copo de Becker contendo água destilada. Inicialmente, as concentrações de água de cada lado da membrana são diferentes. Devido às moléculas de sacarose, a concentração de água é menor dentro do saco de celofane. Assim, a água se move do Becker (onde sua concentração é maior) para o saco de celofane (onde sua concentração é menor).

Entretanto, não há movimento de açúcar para fora do saco de celofane, uma vez que o celofane é impermeável às moléculas de açúcar – essas moléculas são muito grandes para atravessar os poros da membrana. À medida que a água se move para o saco de celofane, a solução de açúcar torna-se cada vez mais diluída e, quando o saco de celofane se expande até o limite máximo, como resultado do volume aumentado de água, a água começa a se mo-

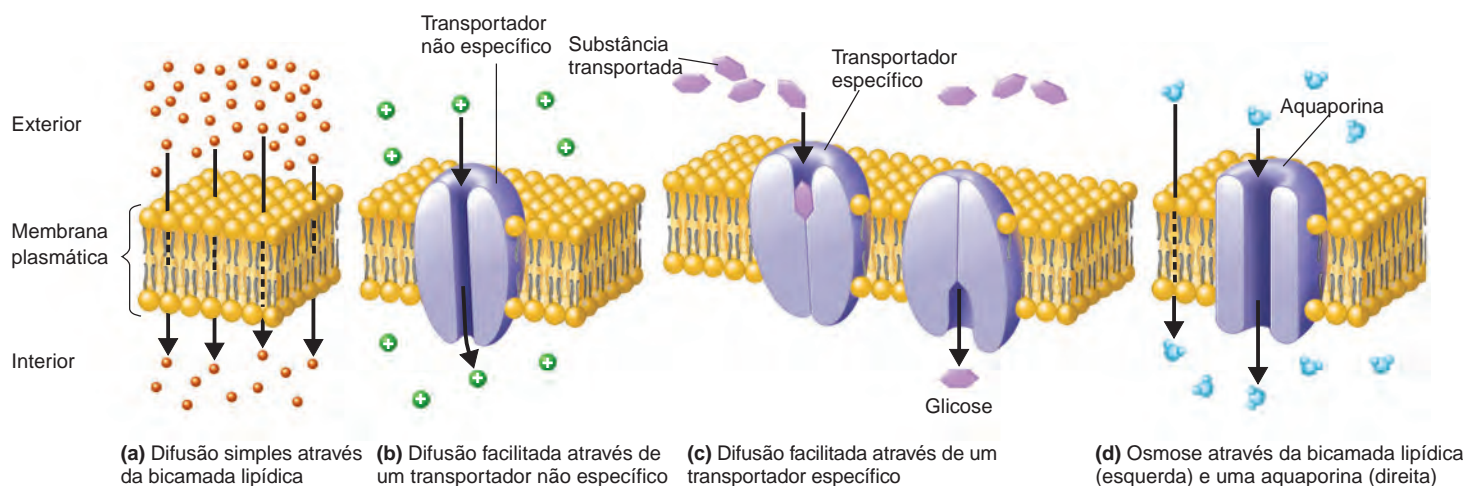



Figura 4.17 Difusão facilitada. As proteínas transportadoras na membrana plasmática transportam as moléculas através da membrana, de uma área de alta concentração para uma de baixa concentração (no sentido do gradiente de concentração). A molécula transportadora provavelmente sofre uma alteração na forma para transportar uma substância. O processo não necessita de ATP.

P Como a difusão simples difere da difusão facilitada?

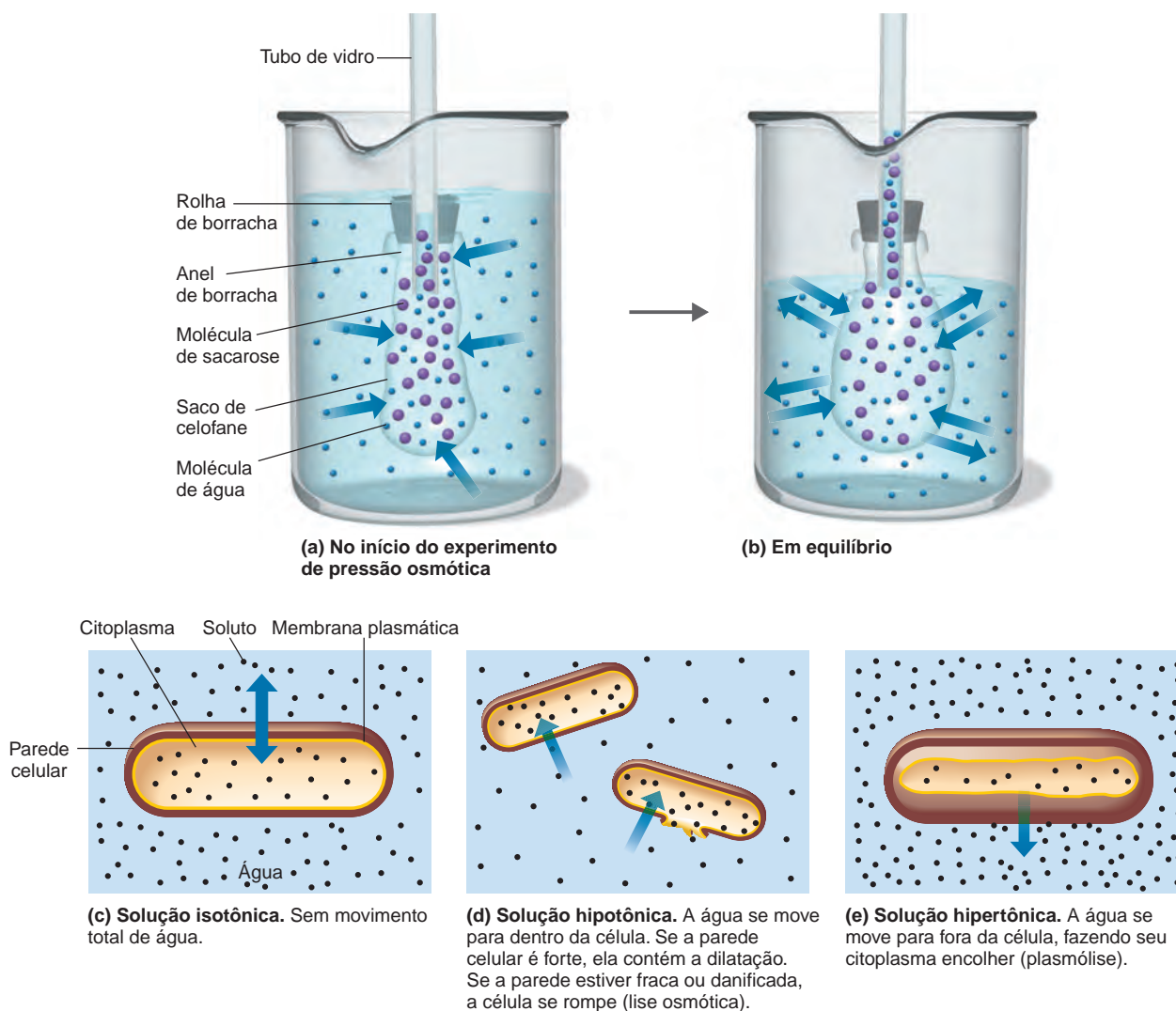



Figura 4.18 **O princípio da osmose.** **(a)** Situação no início de um experimento com pressão osmótica. As moléculas de água começam a se mover do Becker para o saco, no sentido do gradiente de concentração. **(b)** Situação em equilíbrio. A pressão osmótica exercida pela solução no saco empurra as moléculas de água do saco para o copo de Becker, para equilibrar a velocidade de entrada de água no saco. A altura da solução no tubo de vidro em equilíbrio é uma medida da pressão osmótica. **(c)**-**(e)** Os efeitos de várias soluções sobre as células bacterianas.

P **O que é osmose?**

ver para cima no tubo de vidro. Com o tempo, a água que se acumulou no saco de celofane e o tubo de vidro exercem uma pressão para baixo, que força as moléculas de água para fora do saco de celofane e de volta ao Becker. Esse movimento da água através de uma membrana seletivamente permeável produz pressão osmótica. A **pressão osmótica** é a pressão necessária para impedir o movimento de água pura (água sem solutos) para uma solução contendo alguns solutos. Em outras palavras, a pressão osmótica é a pressão necessária para interromper o fluxo de água através da membrana seletivamente permeável (celofane). Quando as moléculas de água saem e entram do saco de celofane na mesma velocidade, o equilíbrio é atingido (Figura 4.18b).

Uma célula bacteriana pode estar sujeita a qualquer um dos três tipos de soluções osmóticas: isotônica, hipotônica ou hipertônica. Uma **solução isotônica** é um meio no qual a concentração total de solutos se iguala com aquela encontrada dentro da célula (*iso* significa igual). A água sai e entra na célula na mesma velocidade (sem alteração líquida); o conteúdo celular está em equilíbrio com a solução do exterior celular (Figura 4.18c).

Anteriormente mencionamos que a lisozima e certos antibióticos (como a penicilina) danificam as paredes celulares bacterianas, induzindo o rompimento ou a lise celular. Essa ruptura ocorre porque o citoplasma bacteriano normalmente contém uma concentração tão alta de solutos que, quando a parede é enfra-

quecida ou removida, água adicional entra na célula por osmose. A parede celular danificada (ou removida) não pode impedir o inchamento da membrana citoplasmática, e ela se rompe. Esse é um exemplo de lise osmótica causada por imersão em uma solução hipotônica. Uma **solução hipotônica** fora da célula é um meio cuja concentração de solutos é inferior ao interior da célula (*hipo* significa abaixo de ou menos). A maioria das bactérias vive em soluções hipotônicas, e a parede celular resiste à osmose e protege a célula da lise. As células com paredes celulares mais fracas, como as bactérias gram-negativas, podem se romper ou sofrer lise osmótica como resultado da entrada excessiva de água (**Figura 4.18d**).

Uma **solução hipertônica** é um meio que contém uma alta concentração de solutos dentro da célula (*hiper* significa acima ou mais). A maioria das células colocadas em soluções hipertônicas murcha e entra em colapso ou plasmólise, pois a água sai das células por osmose (**Figura 4.18e**). Tenha em mente que os termos *isotônica*, *hipotônica* e *hipertônica* descrevem a concentração das soluções fora da célula, *relativa* à concentração dentro da célula.

Processos ativos A difusão simples e a difusão facilitada são mecanismos úteis para transportar substâncias para dentro das células quando a concentração dessas substâncias for maior fora da célula. Contudo, quando uma célula bacteriana está em um ambiente em que há baixa concentração de nutrientes, a célula precisa utilizar processos ativos, como o transporte ativo e a translocação de grupo, para acumular as substâncias necessárias.

Ao realizar um **transporte ativo**, a célula utiliza energia na forma de Trifosfato de Adenosina (ATP) para mover as substâncias através da membrana plasmática. Entre as substâncias ativamente transportadas estão os íons (p. ex., Na^+, K^+, H^+, Ca^{2+} e Cl^-), os aminoácidos e os açúcares simples. Embora essas substâncias também possam ser movidas para dentro da célula por processos passivos, sua movimentação por processos ativos pode ir contra um gradiente de concentração, permitindo à célula acumular o material necessário. O movimento de uma substância por transporte ativo normalmente ocorre de fora para dentro, mesmo que a concentração seja muito maior no interior celular. Assim como na difusão facilitada, o transporte ativo depende de proteínas transportadoras na membrana plasmática (veja a Figura 4.17b,c). Parece haver um transportador diferente para cada substância ou grupo de substâncias transportadas intimamente relacionadas. O transporte ativo permite aos micro-organismos mover substâncias através da membrana plasmática em uma velocidade constante, mesmo se elas estiverem em baixa suplementação.

No transporte ativo, a substância que atravessa a membrana não é alterada pelo transporte através da mesma. Na **translocação de grupo**, uma forma especial de transporte ativo que ocorre exclusivamente em procariotos, a substância é alterada quimicamente durante o transporte através da membrana. Uma vez que a substância seja alterada e esteja dentro da célula, a membrana plasmática se torna impermeável a ela, então a substância permanece dentro da célula. Esse mecanismo importante permite à célula acumular várias substâncias, mesmo que estejam em baixas concentrações fora dela. A translocação de grupo requer energia, suprida por compostos de fosfato de alta energia, como o ácido fosfoenolpirúvico (PEP).

Um exemplo de translocação de grupo é o transporte do açúcar glicose, que frequentemente é usado em meios de crescimento para bactérias. Enquanto uma proteína transportadora específica está transportando a molécula de glicose através da membrana, um grupo fosfato é adicionado ao açúcar. Essa forma fosforilada de glicose, que não pode ser transportada para fora, pode então ser usada nas vias metabólicas celulares.

Algumas células eucarióticas (aquelas sem paredes celulares) podem usar dois processos adicionais de transporte ativo, denominados fagocitose e pinocitose. Esses processos, que não ocorrem em bactérias, são explicados na página 100.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Quais agentes podem causar dano à membrana plasmática bacteriana? **4-8**
- ✓ O quanto os processos de difusão simples e difusão facilitada são similares? O quanto eles são diferentes? **4-9**

Citoplasma

Para uma célula procariótica, o termo **citoplasma** refere-se a uma substância da célula no interior da membrana plasmática (veja a Figura 4.6). Cerca de 80% do citoplasma são compostos de água, contendo principalmente proteínas (enzimas), carboidratos, lipídeos, íons inorgânicos e compostos de peso molecular muito baixo. Os íons inorgânicos estão presentes em concentrações muito maiores no citoplasma que na maioria dos meios. O citoplasma é espesso, aquoso, semitransparente e elástico. As principais estruturas do citoplasma dos procariotos são: uma área nuclear (contendo DNA), as partículas denominadas ribossomos e os depósitos de reserva denominados inclusões. Proteínas filamentosas no citoplasma são diretamente responsáveis pela forma helicoidal e de bastonete da célula bacteriana.

O citoplasma procariótico não possui certas características do citoplasma eucariótico, como um citoesqueleto e correntes citoplasmáticas. Essas características serão descritas posteriormente.

O nucleoide

O **nucleoide** de uma célula bacteriana (veja a Figura 4.6) normalmente contém uma única molécula longa e contínua de DNA de fita dupla, com frequência arranjada de forma circular, denominada **cromossomo bacteriano**. Essa é a informação genética da célula, que carrega todos os dados necessários para as estruturas e as funções celulares. Ao contrário dos cromossomos das células eucarióticas, os cromossomos bacterianos não são circundados por um envelope nuclear (membrana) e não incluem histonas. O nucleoide pode ser esférico, alongado ou em forma de halteres. Em bactérias que estão crescendo ativamente, até 20% do volume celular são ocupados pelo DNA, pois essas células pré-sintetizam o material nuclear para as células futuras. O cromossomo está fixado à membrana plasmática. Acredita-se que proteínas na mem-

brana plasmática sejam responsáveis pela replicação do DNA e pela segregação dos novos cromossomos para as células-filhas, na divisão celular.

Além do cromossomo bacteriano, as bactérias frequentemente contêm pequenas moléculas de DNA de fita dupla, circulares, denominadas **plasmídeos** (veja o fator F na Figura 8.27a, página 238). Essas moléculas são elementos genéticos extracromossômicos; isto é, elas não estão conectadas ao cromossomo bacteriano principal e se replicam independentemente do DNA cromossômico. As pesquisas indicam que os plasmídeos estão associados às proteínas da membrana plasmática. Eles normalmente contêm de 5 a 100 genes que geralmente não são cruciais para a sobrevivência da bactéria em condições ambientais normais; os plasmídeos podem ser adquiridos ou perdidos sem causar dano à célula. Sob certas condições, entretanto, eles são uma vantagem para as células. Os plasmídeos podem transportar genes para atividades como resistência aos antibióticos, tolerância a metais tóxicos, produção de toxinas e síntese de enzimas. Eles podem ser transferidos de uma bactéria para outra. Na verdade, o DNA plasmidial é utilizado para a manipulação genética em biotecnologia.

Ribossomos

Todas as células eucarióticas e procarióticas contêm **ribossomos**, que funcionam como locais de síntese proteica. As células com altas taxas de síntese proteica, como aquelas que estão crescendo ativamente, possuem grande número de ribossomos. O citoplasma de uma célula procariótica contém dezenas de milhares destas estruturas muito pequenas, que dão ao citoplasma um aspecto granular (veja a Figura 4.6).

Os ribossomos são compostos de duas subunidades, cada qual consistindo de proteína e de um tipo de RNA denominado *RNA ribossômico* (*rRNA*). Os ribossomos procarióticos diferem dos ribossomos eucarióticos no número de proteínas e de moléculas de rRNA que eles contêm; eles também são um pouco menores e menos densos que os ribossomos das células eucarióticas. Por isso, os ribossomos procarióticos são denominados ribossomos 70S (**Figura 4.19**), e aqueles das células eucarióticas são conhecidos como ribossomos 80S. A letra S refere-se às unidades *Svedberg*, que indicam a velocidade relativa de sedimentação durante a centrifugação em alta velocidade. A velocidade de sedimentação é uma função do tamanho, do peso e da forma de uma partícula. As subunidades de um ribossomo 70S são uma pequena subunidade 30S, contendo uma molécula de rRNA, e uma subunidade maior 50S, contendo duas moléculas de rRNA.

Vários antibióticos atuam inibindo a síntese proteica nos ribossomos procarióticos. Antibióticos como a estreptomicina e a gentamicina fixam-se à subunidade 30S e interferem com a síntese proteica. Outros antibióticos, como a eritromicina e o cloranfenicol, interferem na síntese proteica pela fixação à subunidade 50S. Devido às diferenças nos ribossomos procarióticos e eucarióticos, a célula microbiana pode ser morta pelo antibiótico enquanto a célula do hospedeiro eucariótico permanece intacta.

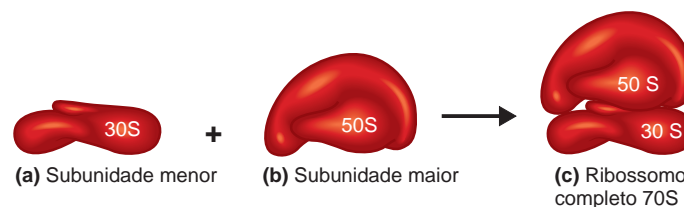



Figura 4.19 O ribossomo procariótico. (a) Uma subunidade menor 30S e **(b)** uma subunidade maior 50S compõem **(c)** o ribossomo procariótico completo 70S.

P Qual a importância das diferenças entre os ribossomos procarióticos e eucarióticos, em relação à antibioticoterapia?

Inclusões

Dentro do citoplasma das células procarióticas, há vários tipos de depósitos de reserva, conhecidos como **inclusões**. As células podem acumular certos nutrientes quando eles são abundantes e usá-los quando estão escassos no ambiente. Evidências sugerem que macromoléculas concentradas nas inclusões evitam o aumento da pressão osmótica que ocorreria se as moléculas estivessem dispersas no citoplasma. Algumas inclusões são comuns a uma ampla variedade de bactérias, enquanto outras são limitadas a um número pequeno de espécies, servindo assim como base para a identificação.

Grânulos metacromáticos

Os **grânulos metacromáticos** são grandes inclusões que recebem seu nome pelo fato de que, algumas vezes, coram-se de vermelho com certos corantes azuis como o azul de metileno. Coletivamente, eles são conhecidos como **volutina**. A volutina representa uma reserva de fosfato inorgânico (polifosfato) que pode ser usada na síntese de ATP, geralmente sendo formada pelas células que crescem em ambientes ricos em fosfato. Os grânulos metacromáticos são encontrados em algas, fungos e protozoários, bem como em bactérias. Esses grânulos são característicos do *Corynebacterium diphtheriae*, agente causador da difteria; assim, eles possuem importância diagnóstica.

Grânulos polissacarídicos

As inclusões conhecidas como **grânulos polissacarídicos** são caracteristicamente compostas de glicogênio e amido, e sua presença pode ser demonstrada quando iodo é aplicado às células. Na presença de iodo, os grânulos de glicogênio ficam de cor marrom-avermelhada, e os grânulos de amido ficam azuis.

Inclusões lipídicas

As **inclusões lipídicas** aparecem em várias espécies de *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Spirillum* e outros gêneros. Um material comum de armazenamento de lipídeos, exclusivo das bactérias, é o polímero *ácido poli-β-hidroxibutírico*. As inclusões lipídicas são reveladas pela coloração das células com corantes solúveis em gordura, como os corantes de Sudão.

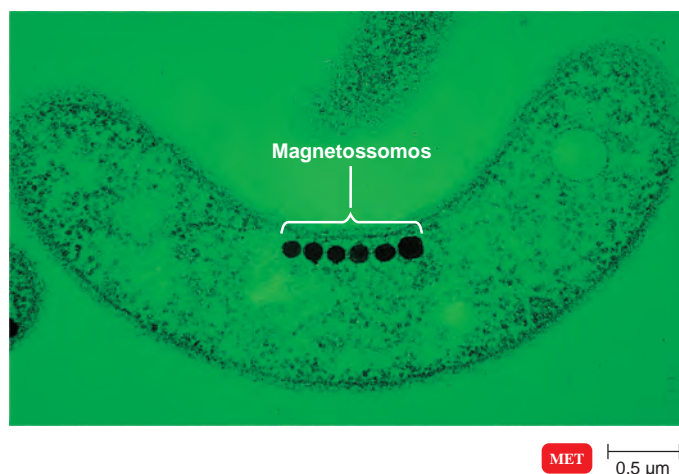



Figura 4.20 **Magnetossomos.** Essa micrografia do *Magnetospirilllum magnetotacticum* mostra uma cadeia de magnetossomos. A membrana externa da parede gram-negativa também é visível.

P **Qual a função dos magnetossomos?**

Grânulos de enxofre

Certas bactérias – por exemplo, as "bactérias do enxofre" que pertencem ao gênero *Thiobacillus* – obtêm energia oxidando o enxofre e compostos contendo enxofre. Essas bactérias podem armazenar **grânulos de enxofre** na célula, onde eles servem como reserva de energia.

Carboxissomos

Os **carboxissomos** são inclusões que contêm a enzima ribulose-1,5-difosfato-carboxilase. As bactérias que usam dióxido de carbono como sua única fonte de carbono requerem essa enzima para a fixação do dióxido de carbono durante a fotossíntese. Entre as bactérias contendo carboxissomos estão as bactérias nitrificantes, as cianobactérias e os tiobacilos.

Vacúolos de gás

Cavidades ocas encontradas em muitos procariotos aquáticos, incluindo as cianobactérias, as bactérias fotossintéticas anoxigênicas e as halobactérias, são denominadas **vacúolos de gás**. Cada vacúolo consiste em fileiras de várias *vesículas de gás* individuais, que são cilindros ocos recobertos por proteína. Os vacúolos de gás mantêm a flutuação, para que as células possam permanecer na profundidade apropriada de água para receberem quantidades suficientes de oxigênio, luz e nutrientes.

Magnetossomos

Os **magnetossomos** são inclusões de óxido de ferro (Fe_3O_4), formadas por várias bactérias gram-negativas como o *Magnetospirillum magnetotacticum*, que agem como ímãs (**Figura 4.20**). As bactérias podem usar os magnetossomos para se mover para baixo até atingir um local de fixação aceitável. *In vitro*, os magnetossomos podem decompor o peróxido de hidrogênio, que se forma nas células em presença de oxigênio. Os pesquisadores especulam que os magnetossomos podem proteger a célula contra o acúmulo de peróxido de hidrogênio.

Endosporos

Quando os nutrientes essenciais se esgotam, certas bactérias gram-positivas como as dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus* formam células especializadas de "repouso", denominadas **endosporos** (**Figura 4.21**). Como você verá mais adiante, alguns membros do gênero *Clostridium* causam doenças como a gangrena, o tétano, o botulismo e a intoxicação alimentar. Alguns membros do gênero *Bacillus* causam o antraz (carbúnculo) e a intoxicação alimentar. Exclusivos das bactérias, os endosporos são células desidratadas altamente duráveis, com paredes espessas e camadas adicionais. Eles são formados dentro da membrana celular bacteriana.

Quando liberados no ambiente, podem sobreviver a temperaturas extremas, falta de água e exposição a muitas substâncias químicas tóxicas e radiação. Por exemplo, endosporos de 7.500 anos de *Thermoactinomyces vulgaris* do lodo congelado do Lago Elk, no estado norte-americano de Minnesota, germinaram quando reaquecidos e colocados em um meio nutriente. Foi relatado também que endosporos com idade entre 25 a 40 milhões de anos, encontrados no intestino de uma abelha sem ferrão, aprisionada em âmbar (resina de árvore endurecida) na República Dominicana, teriam germinado quando colocados em meio nutriente. Embora os endosporos verdadeiros sejam encontrados em bactérias gram-positivas, uma espécie gram-negativa, *Coxiella burnetii*, o agente causador da febre Q, forma estruturas semelhantes a endosporos que resistem ao calor e a substâncias químicas e podem ser coradas com corantes para endosporos (veja a Figura 24.14, página 690).

O processo de formação do endosporo dentro de uma célula vegetativa leva várias horas e é conhecido como **esporulação** ou **esporogênese** (**Figura 4.21a**). Células vegetativas de bactérias que formam endosporos iniciam a esporulação quando um nutriente-chave, como uma fonte de carbono ou nitrogênio, torna-se escassa ou indisponível. No primeiro estágio observável da esporulação, um cromossomo bacteriano recém-replicado e uma pequena porção de citoplasma são isolados por uma invaginação da membrana plasmática, denominada *septo do esporo*. O septo do esporo torna-se uma membrana dupla que circunda o cromossomo e o citoplasma. Essa estrutura, inteiramente fechada dentro da célula original, é denominada *pré-esporo*. Camadas espessas de peptideoglicana são dispostas entre as duas lâminas da membrana. Então, uma espessa *capa* de proteína se forma em torno de toda a membrana externa. Esse revestimento é responsável pela resistência dos endosporos a muitas substâncias químicas agressivas. A célula original é degradada, e o endosporo é liberado.

O diâmetro do endosporo pode ser o mesmo, menor ou maior que o diâmetro da célula vegetativa. Dependendo da espécie, o endosporo pode ser *terminal* (em uma extremidade), *subterminal* (próximo a uma extremidade; **Figura 4.21b**) ou *central*, dentro da célula vegetativa. Quando o endosporo amadurece, a parede celu-

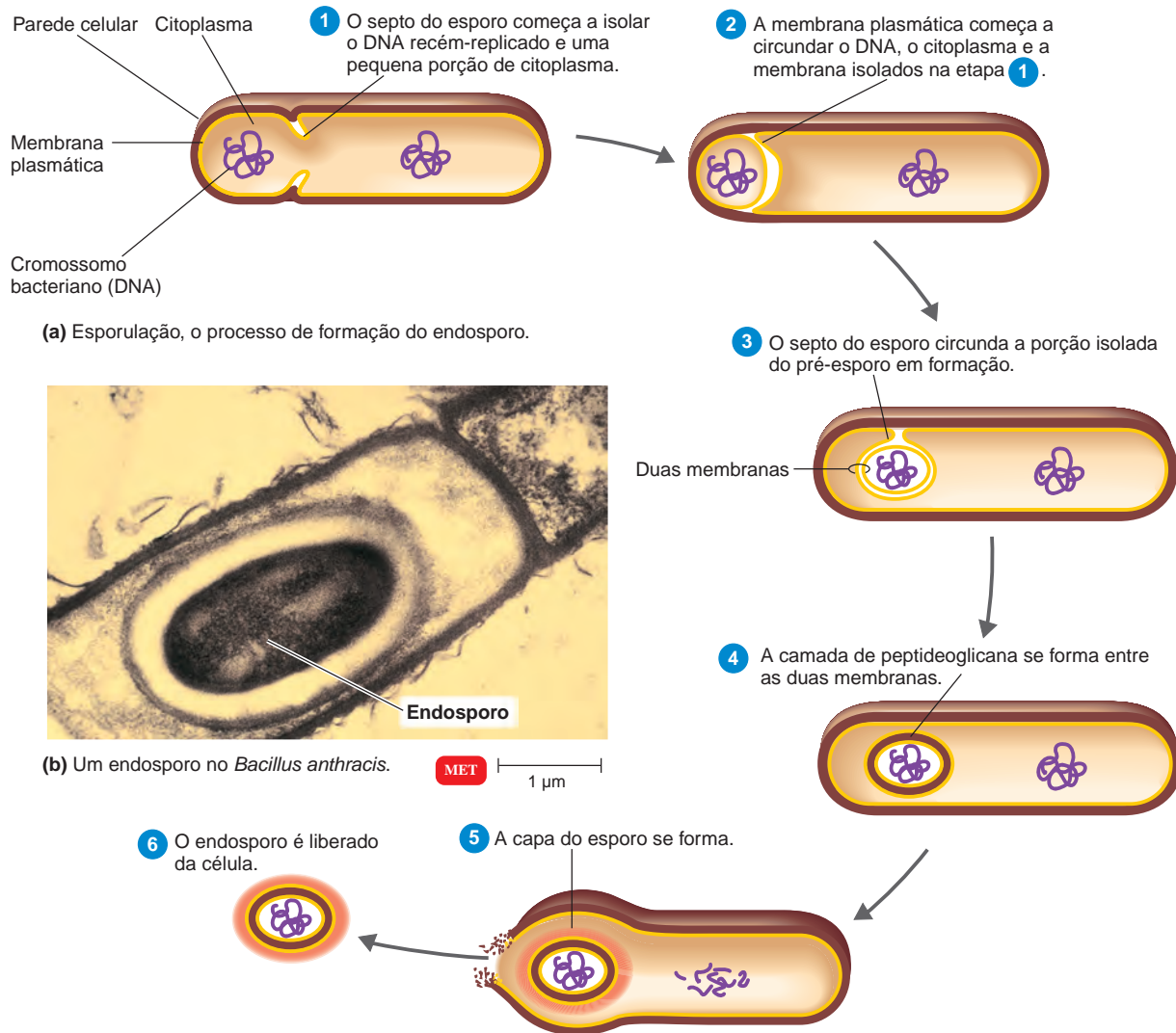



Figura 4.21 **Formação do endosporo por esporulação.**

P **Sob que condições os endosporos são formados pelas bactérias?**

lar vegetativa se rompe (lise), matando a célula, e o endosporo é liberado.

A maior parte da água presente no citoplasma do pré-esporo é eliminada no momento em que a esporulação está completa, e os endosporos não realizam reações metabólicas. O cerne altamente desidratado do endosporo contém somente DNA, pequenas quantidades de RNA, ribossomos, enzimas e algumas moléculas pequenas importantes. Essas últimas incluem uma quantidade notavelmente grande de um ácido orgânico denominado *ácido dipicolínico* (encontrado no citoplasma) que é acompanhado por grande número de íons de cálcio. Esses componentes celulares são essenciais para retomar posteriormente o metabolismo.

Os endosporos podem permanecer dormentes por milhares de anos. Um endosporo retorna ao seu estado vegetativo por um processo denominado **germinação**. A germinação é ativada por uma lesão física ou química no revestimento do endosporo. Então, as enzimas do endosporo rompem as camadas extras que o circundam, a água entra, e o metabolismo recomeça. Como uma célula vegetativa forma um único endosporo que, após a germinação, permanece uma célula única, a esporulação na bactéria *não* é um meio de reprodução. Esse processo não aumenta o número de células. Os endosporos bacterianos diferem dos esporos formados por actinomicetos (procariotos) e fungos eucariotos e algas, os quais se destacam da célula parental e desenvolvem um outro organismo, o que representa uma reprodução.

Os endosporos são importantes do ponto de vista clínico e para a indústria alimentícia, pois são resistentes a processos que normalmente matam as células vegetativas. Esses processos incluem o aquecimento, o congelamento, a dessecação, o uso de substâncias

químicas e a radiação. Enquanto a maioria das células vegetativas é morta por temperaturas acima de 70°C, os endosporos podem sobreviver em água fervente por várias horas ou mais. Os endosporos de bactéria termofílicas (que apreciam o calor) podem sobreviver na água fervente por 19 horas. As bactérias formadoras de endosporos são um problema para a indústria de alimentos, pois podem sobreviver ao subprocessamento e, se ocorrerem condições para o crescimento, algumas espécies produzirão toxinas e doença. Métodos especiais para controlar os organismos que produzem endosporos são discutidos no Capítulo 7.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Onde o DNA está localizado na célula procariótica? **4-10**
- ✓ Qual a função geral das inclusões? **4-11**
- ✓ Sob que condições os endosporos são formados? **4-12**

* * *

Após termos examinado a anatomia funcional da célula procariótica, veremos agora a anatomia funcional da célula eucariótica.

A CÉLULA EUCARIÓTICA

Como mencionado anteriormente, os organismos eucarióticos incluem as algas, os protozoários, os fungos, as plantas e os animais. A célula eucariótica é tipicamente maior e mais complexa do ponto de vista estrutural que a célula procariótica (**Figura 4.22**). Quando a estrutura da célula procariótica na Figura 4.6 é comparada com a da célula eucariótica, as diferenças entre os dois tipos de células tornam-se aparentes. As principais diferenças entre as células procarióticas e eucarióticas são resumidas na **Tabela 4.2**, página 101.

A seguinte discussão das células eucarióticas acompanhará em paralelo nossa discussão das células procarióticas, iniciando com as estruturas que se estendem para fora da célula.

Flagelos e cílios

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-13 Diferenciar os flagelos procarióticos e eucarióticos.

Muitos tipos de células eucarióticas possuem projeções que são usadas para a locomoção celular ou para mover substâncias ao longo da superfície celular. Essas projeções contêm citoplasma e são revestidas por membrana plasmática. Se as projeções são poucas e longas em relação ao tamanho da célula, são denominadas **flagelos**. Se as projeções são numerosas e curtas, são denominadas **cílios.**

As algas do gênero *Euglena* usam um flagelo para a locomoção, enquanto os protozoários, como o *Tetrahymena*, usam cílios para a locomoção (**Figura 4.23a** e **b**). Os flagelos e os cílios estão ancorados à membrana plasmática por um corpo basal e consistem em nove pares (parelhas) de microtúbulos arranjados em um anel, mais outros dois microtúbulos isolados no centro do anel, em um arranjo denominado *arranjo 9 + 2* (**Figura 4.23c**). Os **microtúbulos** são tubos longos ocos, compostos de uma proteína denominada *tubulina*. Um flagelo procariótico gira, mas um flagelo eucariótico se move de forma ondulante (**Figura 4.23d**). Para ajudar a manter os materiais estranhos fora dos pulmões, as células ciliadas do sistema respiratório humano movem os materiais ao longo da superfície das células nos tubos brônquicos e traqueia, em direção à garganta e à boca (veja a Figura 16.4, página 452).

A parede celular e o glicocálice

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-14 Comparar e contrastar a parede celular e o glicocálice de células procarióticas e eucarióticas.

A maioria das células eucarióticas possui paredes celulares, embora elas geralmente sejam muito mais simples que as das células procarióticas. Muitas algas possuem paredes celulares consistindo do polissacarídeo *celulose* (como todas as plantas); outras substâncias químicas também podem estar presentes. As paredes celulares de alguns fungos também contêm celulose, mas, na maioria dos fungos, o principal componente estrutural da parede celular é o polissacarídeo *quitina*, um polímero de unidades de N-acetilglicosamina (NAG). (A quitina também é o principal componente estrutural do exoesqueleto dos crustáceos e insetos.) As paredes celulares das leveduras contêm os polissacarídeos *glicana* e *manana*. Em eucariotos que não possuem parede celular, a membrana plasmática pode ser o revestimento externo; contudo, as células que têm contato direto com o ambiente podem ter revestimentos fora da membrana plasmática. Os protozoários não possuem uma parede celular típica; em vez disso, eles têm uma proteína externa de revestimento flexível denominada *película*.

Em outras células eucarióticas, incluindo as células animais, a membrana plasmática é coberta por um **glicocálice**, uma camada de material contendo quantidades substanciais de carboidratos adesivos. Alguns desses carboidratos são ligados covalentemente a proteínas e lipídeos na membrana plasmática, formando glicoproteínas e glicolipídeos que ancoram o glicocálice à célula. O glicocálice reforça a superfície celular, auxilia a união das células umas às outras e pode contribuir para o reconhecimento entre as células.

P&R As células eucarióticas não contêm peptideoglicana, a estrutura da parede celular procariótica. Isso é significativo clinicamente, pois os antibióticos como as penicilinas e as cefalosporinas atuam contra a peptideoglicana, não afetando as células eucarióticas humanas.

CÉLULA VEGETAL
Peroxissomo
Mitocôndria
Microfilamento
Complexo de Golgi
Microtúbulo
Vacúolo
Cloroplasto
Ribossomo
Citoplasma
Retículo endoplasmático liso
Parede celular
Retículo endoplasmático rugoso
Núcleo
Nucléolo
Membrana plasmática

CÉLULA ANIMAL
Flagelo
Núcleo
Nucléolo
Complexo de Golgi
Corpo basal
Citoplasma
Microfilamento
Lisossomo
Centrossomo:
Centríolo
Material pericentriolar
Ribossomo
Microtúbulo
Peroxissomo
Retículo endoplasmático rugoso
Mitocôndria
Retículo endoplasmático liso
Membrana plasmática

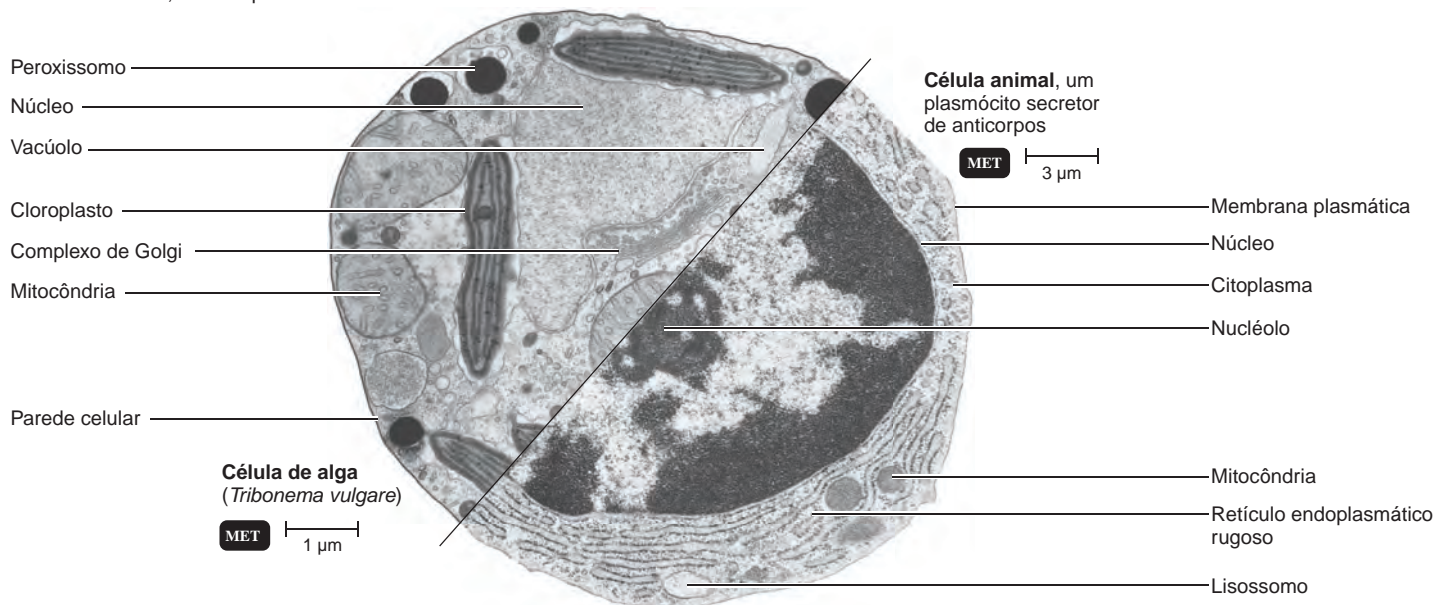
(a) Diagrama altamente esquemático da composição de uma célula eucariótica, metade planta e metade animal.

(b) Micrografias eletrônicas de transmissão de uma célula vegetal e uma célula animal.

Figura 4.22 **Células eucarióticas mostrando estruturas típicas.**

P **Que reinos contêm os organismos eucarióticos?**

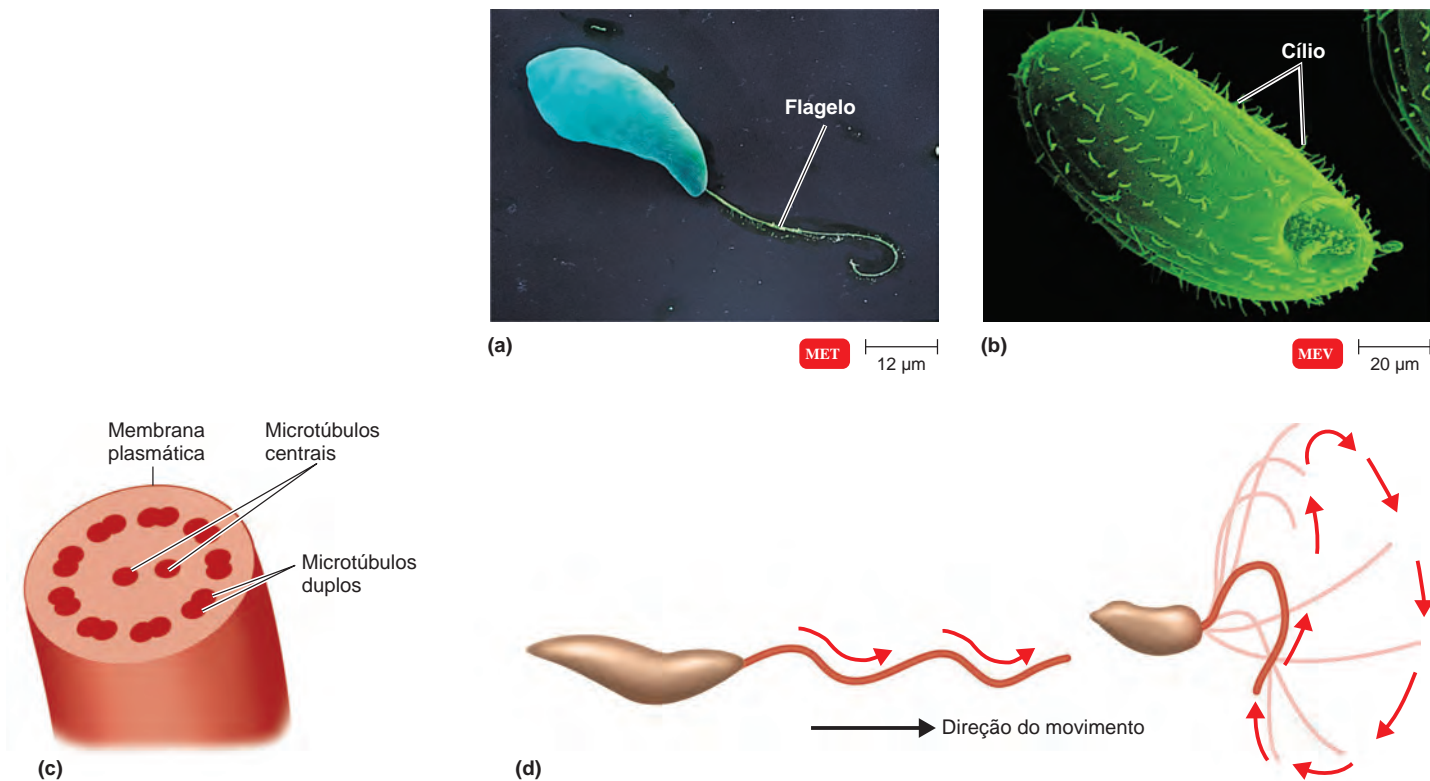



Figura 4.23 **Flagelos e cílios eucarióticos.** **(a)** Uma micrografia da *Euglena*, uma alga que contém clorofila, com seu flagelo. **(b)** Uma micrografia de *Tetrahymena*, um protozoário comum de água fresca, com cílios. **(c)** A estrutura interna de um flagelo (ou cílio), mostrando o arranjo *9 + 2* de microtúbulos. **(d)** O padrão de movimento de um flagelo eucariótico.

P **Qual a diferença entre os flagelos procarióticos e eucarióticos?**

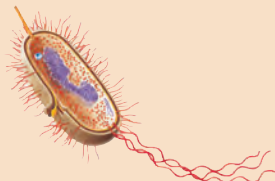
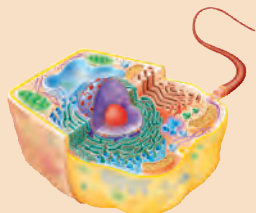
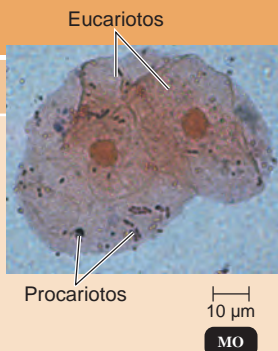
A membrana plasmática (citoplasmática)

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-15 Comparar e contrastar as membranas plasmáticas de procariotos e eucariotos.

As **membranas plasmáticas (citoplasmáticas)** das células eucarióticas e procarióticas são muito similares na função e na estrutura básica. Existem, contudo, diferenças nos tipos de proteínas encontradas nas membranas. As membranas eucarióticas também contêm carboidratos, que servem como sítios de ligação para as bactérias e como sítios receptores que assumem um papel nas funções de reconhecimento entre as células. As membranas plasmáticas eucarióticas também contêm *esteróis*, lipídeos complexos não encontrados nas membranas plasmáticas procarióticas (com exceção das células do *Mycoplasma*). Os esteróis parecem estar associados com a capacidade das membranas de resistir à lise resultante da elevação da pressão osmótica.

As substâncias podem atravessar as membranas plasmáticas eucarióticas e procarióticas por difusão simples, difusão facilitada, osmose ou transporte ativo. A translocação de grupo não ocorre em células eucarióticas. Entretanto, as células eucarióticas podem usar um mecanismo denominado **endocitose**. Isso ocorre quando um segmento da membrana plasmática circunda uma partícula ou molécula grande, recobre-a e a conduz para dentro da célula.

Dois tipos muito importantes de endocitose são a fagocitose e a pinocitose. Durante a *fagocitose*, projeções celulares denominadas pseudópodes englobam as partículas e as trazem para dentro da célula. A fagocitose é usada pelos leucócitos para destruir bactérias e substâncias estranhas (veja a Figura 16.8, página 461, e uma discussão mais aprofundada no Capítulo 16). Na *pinocitose*, a membrana plasmática dobra-se para dentro, trazendo o líquido extracelular para o interior da célula, junto com qualquer substância que esteja dissolvida nele. A pinocitose é uma das maneiras pelas quais os vírus podem entrar nas células animais (veja a Figura 13.14a, página 384).

Citoplasma

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-16 Comparar e contrastar o citoplasma de eucariotos e procariotos.

O **citoplasma** das células eucarióticas inclui as substâncias no interior da membrana plasmática e externas ao núcleo (veja a Figura 4.22). O citoplasma é a substância na qual vários componentes ce-

Tabela 4.2 Principais diferenças entre as células procarióticas e eucarióticas

Característica	Procarioto	Eucarioto
Tamanho da célula	Tipicamente 0,2 a 2,0 μm de diâmetro	Tipicamente 10 a 100 μm de diâmetro
Núcleo	Sem membrana nuclear ou nucléolo	Núcleo verdadeiro, consistindo de membrana nuclear e nucléolo
Organelas revestidas por membrana	Ausentes	Presentes; os exemplos incluem lisossomos, complexo de Golgi, retículo endoplasmático, mitocôndrias e cloroplastos
Flagelos	Consistem em dois blocos construtivos de proteína	Complexos; consistem em múltiplos microtúbulos
Glicocálice	Presente como cápsula ou camada viscosa	Presente em algumas células que não possuem uma parede celular
Parede celular	Geralmente presente; complexa do ponto de vista químico (a parede celular bacteriana típica inclui peptideoglicana)	Quando presente, quimicamente simples (inclui celulose e quitina)
Membrana plasmática	Sem carboidratos e geralmente não tem esteróis	Esteróis e carboidratos que servem como receptores
Citoplasma	Sem citoesqueleto ou corrente citoplasmática	Citoesqueleto, corrente citoplasmática
Ribossomos	Tamanho menor (70S)	Tamanho maior (80S); tamanho menor (70S) nas organelas
Cromossomo (DNA)	Normalmente um único cromossomo circular; não possui histonas	Múltiplos cromossomos lineares com histonas
Divisão celular	Fissão binária	Envolve mitose
Recombinação sexual	Nenhuma; somente transferência de DNA	Envolve meiose

lulares são encontrados. (O termo **citosol** se refere à porção líquida do citoplasma.) Uma importante diferença entre o citoplasma eucariótico e o procariótico é que o citoplasma de eucariotos possui uma estrutura interna complexa, consistindo de bastões extremamente pequenos (*microfilamentos* e *filamentos intermediários*) e cilindros (*microtúbulos*). Juntos, eles formam o **citoesqueleto**. O citoesqueleto fornece suporte e aspecto morfológico, auxiliando no transporte das substâncias através da célula (e até mesmo para mover toda a célula, como na fagocitose). O movimento do citoplasma eucariótico de uma parte da célula para outra, que auxilia a distribuir os nutrientes e mover a célula sobre uma superfície, é denominado **fluxo citoplasmático**. Outra diferença entre o citoplasma procariótico e o eucariótico é que muitas das enzimas importantes encontradas no líquido citoplasmático dos procariotos estão contidas nas organelas dos eucariotos.

Ribossomos

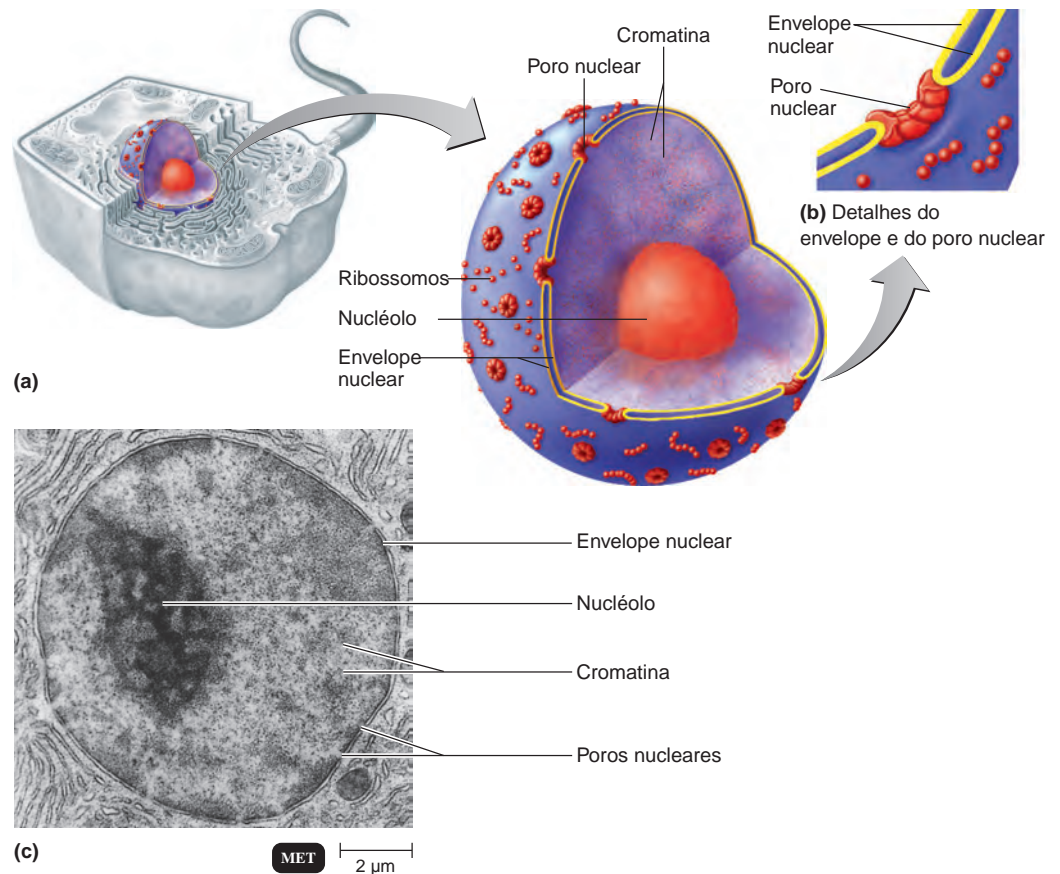
OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-17 Comparar a estrutura e a função dos ribossomos de eucariotos e procariotos.

Ligados à superfície externa do retículo endoplasmático rugoso (discutido na página 103) estão os **ribossomos** (veja a Figura 4.25), que também são encontrados livres no citoplasma. Como nos procariotos, os ribossomos são locais de síntese proteica na célula.

Os ribossomos do retículo endoplasmático eucariótico e do citoplasma são mais largos e mais densos que os das células procarióticas. Esses ribossomos eucarióticos são 80S, cada um dos quais consistindo em uma subunidade maior de 60S contendo três moléculas de rRNA e uma subunidade menor 40S com uma molécula

Figura 4.24 O núcleo eucariótico. **(a, b)** Desenhos de detalhes de um núcleo. **(c)** Uma micrografia de um núcleo.

P O que mantém o núcleo suspenso na célula?

de rRNA. As subunidades são feitas separadamente no nucléolo e, uma vez produzidas, deixam o núcleo e se acoplam no citosol. Cloroplastos e mitocôndrias contêm ribossomos 70S, o que pode indicar sua evolução a partir dos procariotos. (Essa hipótese é discutida na página 106.) O papel dos ribossomos na síntese proteica será discutido em mais detalhes no Capítulo 8.

Alguns ribossomos, chamados de *ribossomos livres*, estão desligados de quaisquer estruturas no citoplasma. Os ribossomos livres sintetizam principalmente as proteínas utilizadas *dentro* da célula. Outros ribossomos, chamados de *ribossomos ligados à membrana*, se aderem à membrana nuclear e ao retículo endoplasmático. Esses ribossomos sintetizam as proteínas destinadas à inserção na membrana plasmática ou à exportação a partir da célula onde foram produzidas. Os ribossomos localizados dentro da mitocôndria sintetizam as proteínas mitocondriais. Algumas vezes, 10 a 20 ribossomos se juntam em um arranjo enfileirado denominado *polirribossomo*.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Identifique ao menos uma diferença significativa entre cílios e flagelos eucarióticos e procarióticos, paredes celulares, membranas plasmáticas e citoplasma. **4-13 a 4-16**
- ✓ O antibiótico eritromicina se liga à porção 50S do ribossomo. Qual o efeito dessa ligação na célula procariótica? E na célula eucariótica? **4-17**

Organelas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

4-18 Definir *organela*.

4-19 Descrever as funções do núcleo, do retículo endoplasmático, do complexo de Golgi, dos lisossomos, dos vacúolos, das mitocôndrias, dos cloroplastos, dos peroxissomos e dos centrossomos.

As **organelas** são estruturas com formatos específicos e funções especializadas, sendo características das células eucarióticas. Elas incluem o núcleo, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, os lisossomos, os vacúolos, as mitocôndrias, os cloroplastos, os peroxissomos e os centrossomos. Nem todas as organelas descritas podem ser encontradas em todas as células. Certas células possuem seu próprio tipo e distribuição de organelas, com base em especialização, idade e nível de atividade.

O núcleo

A organela eucariótica mais característica é o núcleo (veja a Figura 4.22). O **núcleo** (**Figura 4.24**) normalmente é esférico ou oval, sendo frequentemente a maior estrutura na célula, e contém quase toda a informação hereditária (DNA). Algum DNA também é encontrado nas mitocôndrias e nos cloroplastos dos organismos fotossintéticos.

O núcleo é circundado por uma membrana dupla denominada **envelope nuclear**. Ambas as membranas lembram a membra-

na plasmática em sua estrutura. Pequenos canais na membrana chamados de **poros nucleares** permitem ao núcleo se comunicar com o citoplasma (**Figura 4.24b**). Os poros nucleares controlam o movimento de substâncias entre o núcleo e o citoplasma. Dentro do envelope nuclear existem um ou mais corpos esféricos, denominados **nucléolos**. Os nucléolos são, na verdade, regiões condensadas de cromossomos onde o RNA ribossômico está sendo sintetizado. O RNA ribossômico é um componente essencial dos ribossomos.

O núcleo também contém a maior parte do DNA da célula, que é combinado a várias proteínas, incluindo algumas proteínas básicas denominadas **histonas** e não histonas. A combinação de cerca de 165 pares de bases de DNA e 9 moléculas de histonas é referida como um *nucleossoma*. Quando a célula não está se reproduzindo, o DNA e suas proteínas associadas parecem uma massa enovelada, denominada **cromatina**. Durante a divisão nuclear, a cromatina se enrola em corpos semelhantes a bastões curtos e espessos denominados **cromossomos**. Os cromossomos procarióticos não sofrem esse processo, não possuem histonas e não estão revestidos por um envelope nuclear.

As células eucarióticas necessitam de dois elaborados mecanismos, a mitose e a meiose, para segregar cromossomos antes da divisão celular. Nenhum desses processos ocorre nas células procarióticas.

Retículo endoplasmático

Dentro do citoplasma das células eucarióticas está o **retículo endoplasmático**, ou **RE**, uma extensa rede de sacos membranosos achatados ou túbulos denominados **cisternas** (**Figura 4.25**). A rede do RE é contínua com o envelope nuclear (veja a Figura 4.22a).

A maioria das células eucarióticas contém duas formas de RE distintas, mas inter-relacionadas, que diferem em estrutura e função. A membrana do **RE rugoso** é contínua com a membrana nuclear e normalmente se dobra em uma série de sacos achatados. A superfície exterior do RE rugoso é salpicada de ribossomos, o local da síntese proteica. Proteínas sintetizadas pelos ribossomos aderidos ao RE rugoso penetram nas cisternas dentro do RE para processamento e seleção. Em alguns casos, as enzimas dentro das cisternas agregam as proteínas a carboidratos para formar glicoproteínas. Em outros casos, as enzimas aderem as proteínas aos fosfolipídeos, também sintetizados pelo RE rugoso. Essas moléculas podem ser incorporadas às membranas das organelas ou à membrana plasmática. Dessa forma, o RE rugoso é uma fábrica para a síntese de proteínas secretórias e moléculas das membranas.

O **RE liso** se estende a partir do RE rugoso para formar uma rede de túbulos de membranas (veja a Figura 4.25). Diferente do RE rugoso, o RE liso não possui ribossomos na superfície externa de sua membrana. Entretanto, o RE liso contém enzimas exclusivas que o tornam funcionalmente mais diverso que o RE rugoso. Embora não sintetize proteínas, o RE liso sintetiza fosfolipídeos, assim como o RE rugoso. O RE liso também sintetiza gorduras e esteroides, como o estrogênio e a testosterona. Nas células hepáticas, as enzimas do RE liso ajudam a liberar a glicose na corrente sanguínea e a inativar ou detoxificar drogas e outras substâncias potencialmente nocivas (p. ex., o álcool). Nas células musculares,

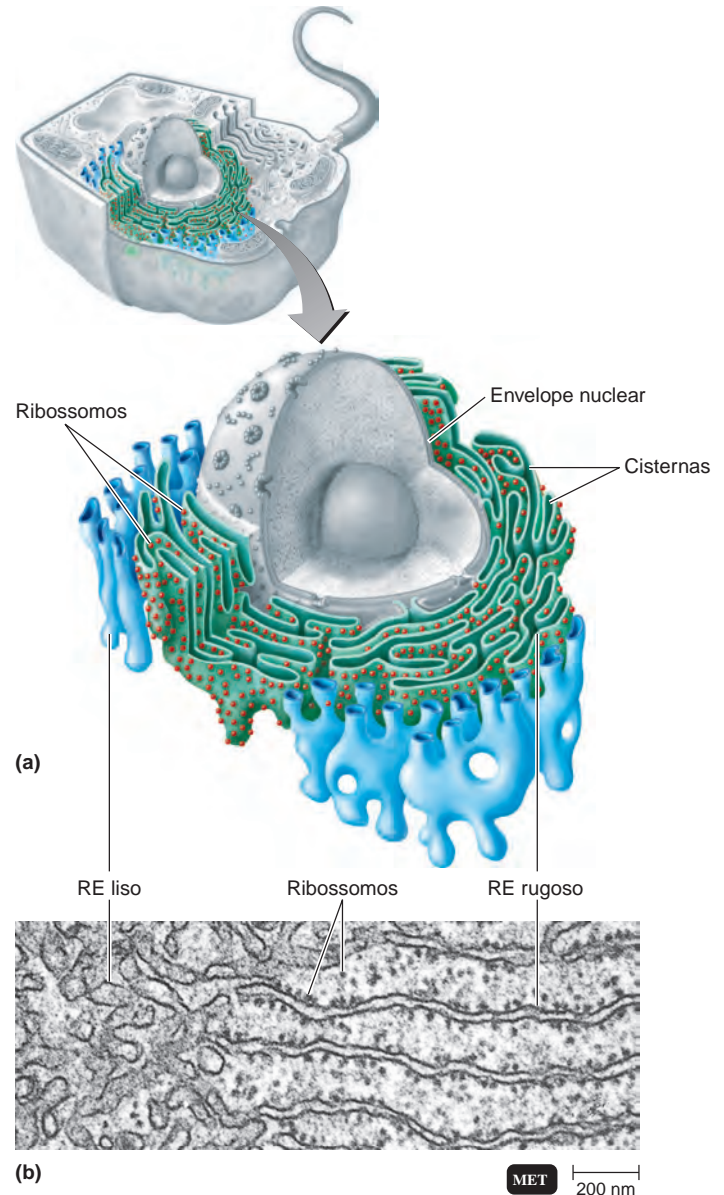



Figura 4.25 Retículo endoplasmático rugoso e ribossomos. (a) Um desenho dos detalhes do retículo endoplasmático. **(b)** Uma micrografia do retículo endoplasmático rugoso e dos ribossomos.

P Qual a diferença entre o RE rugoso e o RE liso?

os íons cálcio liberados do retículo sarcoplasmático, uma forma de RE liso, acionam o processo de contração.

Complexo de Golgi

A maioria das proteínas sintetizadas pelos ribossomos aderidos ao RE rugoso é transportada para outras regiões da célula. O primeiro passo do percurso é através de uma organela denominada **complexo de Golgi**, que consiste em 3 a 20 cisternas que lembram uma pilha de pães sírios (**Figura 4.26**). As cisternas frequentemen-

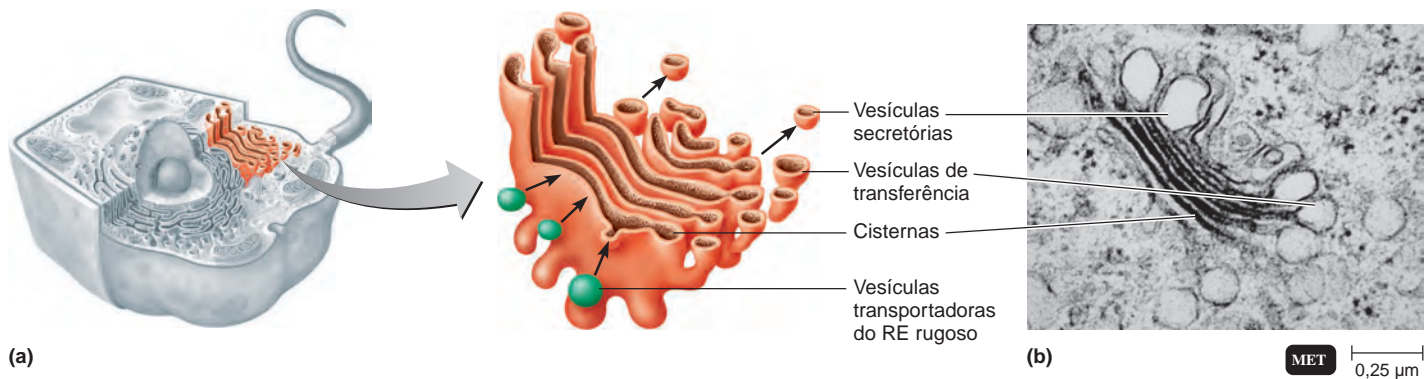



Figura 4.26 O complexo de Golgi. (a) Um desenho dos detalhes de um complexo de Golgi. **(b)** Uma micrografia de um complexo de Golgi.

P Qual a função do complexo de Golgi?

te são curvas, dando ao complexo de Golgi um formato que lembra uma xícara.

As proteínas sintetizadas pelos ribossomos no RE rugoso são circundadas por uma porção da membrana do RE, que eventualmente brota da superfície da membrana para formar uma **vesícula transportadora**. Essa vesícula se funde com a cisterna do complexo de Golgi, liberando as proteínas dentro da cisterna. As proteínas são modificadas e transportadas de uma cisterna para a outra através das **vesículas de transferência** que brotam nos bordos das cisternas. As enzimas nas cisternas modificam as proteínas para formar glicoproteínas, glicolipídeos e lipoproteínas. Algumas dessas proteínas processadas deixam as cisternas nas **vesículas secretórias**, que se soltam da cisterna e entregam as proteínas para a membrana plasmática, onde são liberadas por exocitose. Outras proteínas processadas deixam as cisternas em vesículas que liberam seu conteúdo para ser incorporado à membrana plasmática. Finalmente, algumas proteínas processadas deixam as cisternas em vesículas que são chamadas de **vesículas de armazenamento**. A principal vesícula de armazenamento é o lisossomo, cuja estrutura e funções serão discutidas a seguir.

Lisossomos

Os **lisossomos** são formados a partir dos complexos de Golgi e parecem esferas revestidas por uma membrana. Ao contrário das mitocôndrias, os lisossomos têm somente uma única membrana e não possuem estrutura interna (veja a Figura 4.22). Porém, eles contêm em torno de 40 tipos diferentes de enzimas digestivas, capazes de degradar muitos tipos de moléculas. Além disso, essas enzimas podem ainda digerir bactérias que penetram na célula. Os leucócitos humanos, que usam a fagocitose para ingerir bactérias, contêm grandes números de lisossomos.

Vacúolos

Um **vacúolo** (veja a Figura 4.22) é um espaço, ou uma cavidade, no citoplasma de uma célula que é revestido por uma membrana chamada de *tonoplasto*. Nas células vegetais, os vacúolos podem ocupar de 5 a 90% do volume celular, dependendo do tipo de célula. Eles são derivados dos complexos de Golgi e possuem várias funções. Alguns vacúolos servem como organelas temporárias de armazenamento para substâncias como as proteínas, os açúcares, os ácidos orgânicos e os íons inorgânicos. Outros vacúolos se formam durante a endocitose para auxiliar a trazer alimento para dentro da célula. Muitas células vegetais também armazenam subprodutos metabólicos e toxinas que, de outro modo, seriam nocivos ao se acumular no citoplasma. Finalmente, os vacúolos podem captar água, permitindo às células das plantas aumentarem de tamanho e também fornecendo rigidez às folhas e aos caules.

Mitocôndrias

Organelas esféricas, ou em forma cilíndrica, denominadas **mitocôndrias** existem no citoplasma da maioria das células eucarióticas (veja a Figura 4.22). O número de mitocôndrias por célula varia muito entre tipos diferentes de células. Por exemplo, o protozoário *Giardia* não tem nenhuma, enquanto uma célula hepática possui de 1.000 a 2.000 mitocôndrias. Uma mitocôndria consiste em uma membrana dupla similar em estrutura à membrana plasmática (**Figura 4.27**). A membrana mitocondrial externa é lisa, mas a interna está organizada em uma série de pregas denominadas **cristas**. O centro da mitocôndria é uma substância semifluida denominada **matriz**. Devido à natureza e ao arranjo das cristas, a membrana interna fornece uma enorme superfície em que as reações químicas podem ocorrer. Algumas proteínas que fazem parte da respiração celular, incluindo a enzima que produz o ATP, estão localizadas nas cristas da membrana mitocondrial interna, e muitas das etapas metabólicas envolvidas na respiração celular estão concentradas na matriz (veja o Capítulo 5). As mitocôndrias frequentemente são consideradas o “gerador da célula”, devido ao seu papel central na produção de ATP.

As mitocôndrias contêm ribossomos 70S e algum DNA próprio, bem como a maquinaria necessária para replicar, transcrever e traduzir a informação codificada pelo seu DNA. Além disso, as mitocôndrias podem se reproduzir mais ou menos por si mesmas, crescendo e se dividindo em duas.

Cloroplastos

As algas e as plantas verdes contêm uma organela exclusiva denominada **cloroplasto** (**Figura 4.28**), uma estrutura revestida por membrana que contém o pigmento clorofila e as enzimas necessárias para as fases de captação de luz da fotossíntese (veja o Capítulo 5). A clorofila está contida em sacos achatados de membrana denominados **tilacoides**. As pilhas de tilacoides são denominadas *grana* (Figura 4.28).

Assim como as mitocôndrias, os cloroplastos contêm ribossomos 70S, DNA e enzimas envolvidos na síntese proteica. Eles são capazes de se multiplicar por si próprios dentro da célula. O modo pelo qual os cloroplastos e as mitocôndrias se multiplicam – aumentando de tamanho e então se dividindo em dois – é notavelmente remanescente da multiplicação bacteriana.

Peroxissomos

Organelas similares em estrutura aos lisossomos, mas menores, são chamadas de **peroxissomos** (veja a Figura 4.22). Embora antigamente se pensasse que os peroxissomos brotassem do RE, atualmente se concorda que eles se formam pela divisão de peroxissomos preexistentes.

Os peroxissomos contêm uma ou mais enzimas capazes de oxidar substâncias orgânicas variadas. Por exemplo, substâncias como os aminoácidos e os ácidos graxos são oxidadas nos peroxissomos como parte normal do metabolismo. Além disso, as enzimas nos peroxissomos oxidam substâncias tóxicas, como o álcool. Um subproduto das reações de oxidação é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um componente potencialmente tóxico. Contudo, os peroxissomos também contêm a enzima *catalase*, que decompõe o H_2O_2 (veja o Capítulo 6, página 162). Uma vez que a geração e a degradação de H_2O_2 ocorrem na mesma organela, os peroxissomos protegem outras partes da célula dos efeitos tóxicos do H_2O_2.

Centrossomo

O **centrossomo**, localizado próximo ao núcleo, consiste em dois componentes: a área pericentriolar e os centríolos (veja a Figura 4.22). O *material pericentriolar* é a região do citosol composta de uma densa rede de pequenas fibras proteicas. Essa área é o centro organizacional para o fuso mitótico, que desempenha um papel fundamental na divisão celular e na formação de microtúbulos em células que não estão se dividindo. Dentro do material pericentriolar está um par de estruturas cilíndricas denominadas *centríolos*, e cada uma é composta de nove grupos de três microtúbulos (triplos) dispostos de forma circular, em um arranjo denominado *arranjo 9 + 0*. O 9 se refere aos nove grupos de microtúbulos, e o 0 se refere à ausência de microtúbulos no centro. O eixo longo de um centríolo está em ângulo reto com o eixo longo de outro.

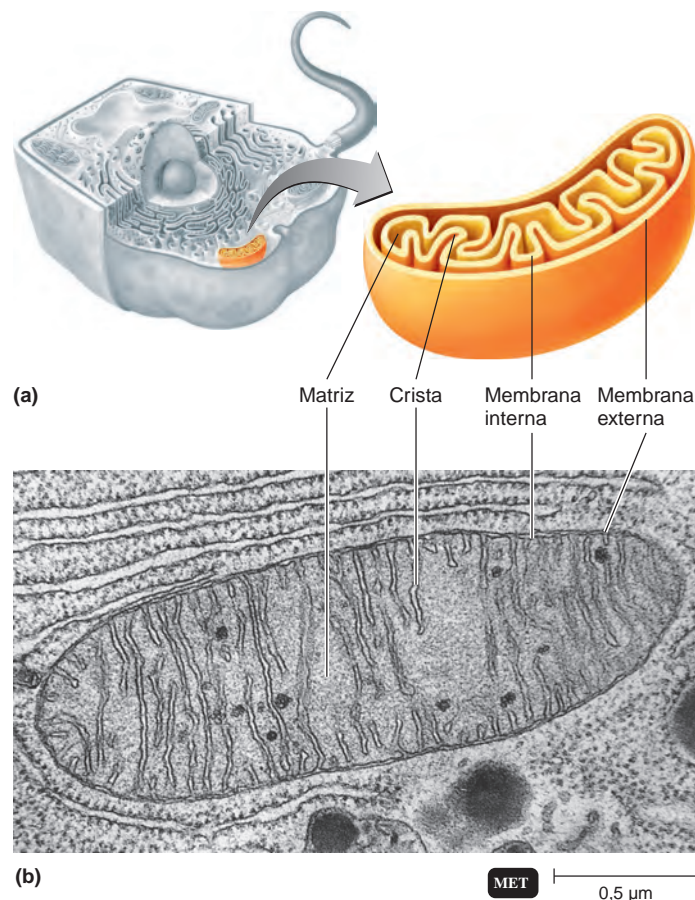



Figura 4.27 **Mitocôndria.** **(a)** Um desenho dos detalhes de uma mitocôndria. **(b)** Uma micrografia de uma mitocôndria de uma célula pancreática de um rato.

P **Em que as mitocôndrias são similares às células procarióticas?**

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Compare a estrutura do núcleo de um eucarioto com o nucleoide de um procarioto. **4-18**
- ✓ Como o RE liso e o RE rugoso se comparam estrutural e funcionalmente? **4-19**

A evolução dos eucariotos

OBJETIVO DO APRENDIZADO

4-20 Discutir a evidência que dá suporte à teoria endossimbiótica da evolução dos eucariotos.

Os biólogos geralmente acreditam que a vida surgiu na Terra sob a forma de organismos muito simples, semelhantes a células

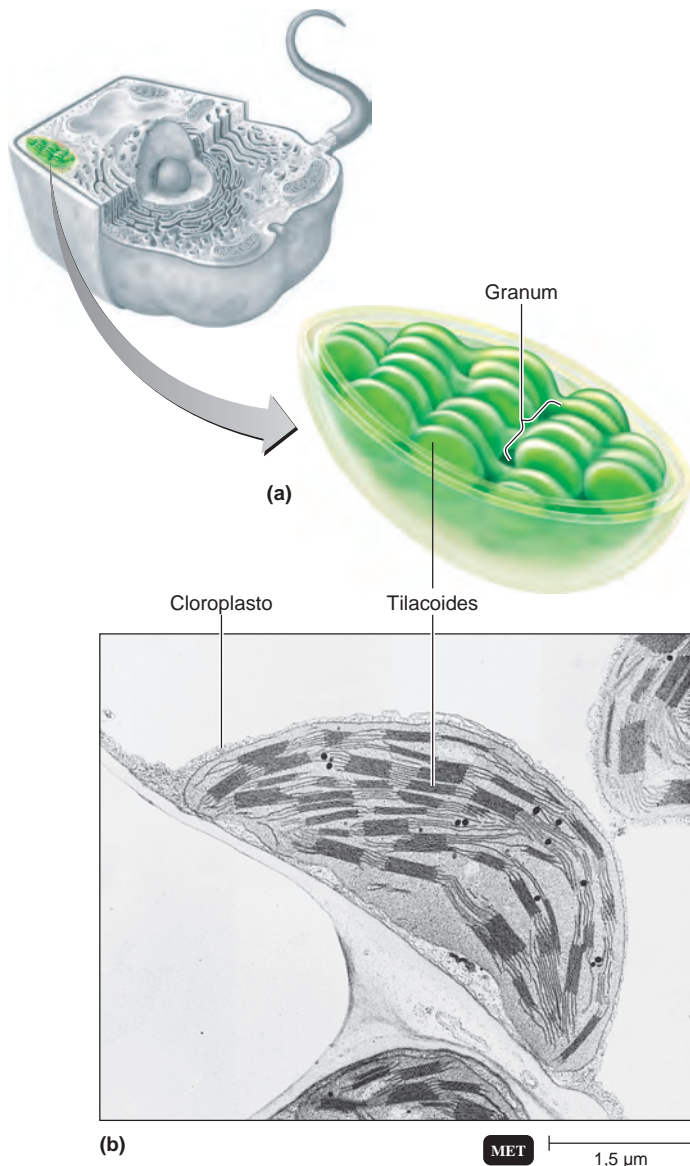



Figura 4.28 **Cloroplastos.** A fotossíntese ocorre nos cloroplastos; os pigmentos que captam a luz estão localizados nos tilacoides. **(a)** Um desenho dos detalhes de um cloroplasto, mostrando os *grana*. **(b)** Uma micrografia de cloroplastos em uma célula vegetal.

P Quais as semelhanças entre os cloroplastos e as células procarióticas?

procarióticas, há cerca de 3,5 a 4 bilhões de anos. Mais ou menos 2,5 bilhões de anos atrás, as primeiras células eucarióticas evoluíram das células procarióticas. Lembre-se de que os procariotos e os eucariotos diferem principalmente porque os eucariotos possuem organelas altamente especializadas. A teoria que explica a origem dos eucariotos a partir dos procariotos, primeiro apresentada por Lynn Margulis, é a **teoria endossimbiótica**. Segundo essa teoria, células bacterianas maiores perderam sua parede celular e engoliram células bacterianas menores. Essa relação, em que um organismo vive dentro de outro, é chamada de *endossimbiose* (simbiose = viver junto).

De acordo com a teoria endossimbiótica, o eucarioto ancestral desenvolveu um núcleo rudimentar quando a membrana plasmática se dobrou em volta do cromossomo (veja a Figura 10.2, página 277). Essa célula, chamada de nucleoplasma, pode ter ingerido bactérias aeróbicas. Algumas bactérias ingeridas viveram dentro do nucleoplasma hospedeiro. Essa organização evoluiu para uma relação simbiótica em que o núcleo hospedeiro fornecia nutrientes e a bactéria endossimbiótica produzia energia que poderia ser usada pelo nucleoplasma. Do mesmo modo, os cloroplastos podem ser descendentes de procariotos fotossintéticos ingeridos por esse nucleoplasma primitivo. Acredita-se que os flagelos e os cílios eucarióticos tenham se originado de associações simbióticas entre a membrana plasmática dos primeiros eucariotos e bactérias móveis espiraladas, chamadas de espiroquetas. Um exemplo que sugere como os flagelos se desenvolveram é descrito no quadro na próxima página.

Estudos comparando as células procarióticas e as eucarióticas fornecem evidências para a teoria endossimbiótica. Por exemplo, tanto as mitocôndrias quanto os cloroplastos lembram bactérias em tamanho e forma. Além disso, essas organelas contêm DNA circular, que é típico de procariotos, e as organelas podem se reproduzir independente de suas células hospedeiras. Os ribossomos das mitocôndrias e dos cloroplastos se assemelham àqueles dos procariotos, e seu mecanismo de síntese proteica é mais parecido com aquele encontrado em bactérias do que em eucariotos. Além do mais, os mesmos antibióticos que inibem a síntese proteica nos ribossomos das bactérias também a inibem nos ribossomos das mitocôndrias e dos cloroplastos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais as três organelas que não estão associadas ao complexo de Golgi? O que isso sugere sobre a sua origem? **4-20**

* * *

A seguir, examinaremos o metabolismo microbiano. No Capítulo 5, você aprenderá sobre a importância das enzimas para os micro-organismos e os modos pelos quais os micróbios produzem e utilizam energia.

Por que os microbiologistas estudam os cupins?

Embora os cupins sejam famosos por sua habilidade de comer madeira, causando danos às estruturas de madeira e reciclando a celulose do solo, eles são incapazes de digerir a madeira que comem. Para quebrar a celulose, os cupins necessitam da ajuda de uma variedade de micro-organismos. Alguns cupins, por exemplo, cavam túneis na madeira e então inoculam os túneis com um fungo que cresce sobre a madeira. Esses cupins então comem o fungo, não a madeira em si.

O que os microbiologistas acham mais interessante é que os cupins possuem, dentro de seu trato digestório, micro-organismos simbióticos que digerem a celulose que os cupins mastigam e engolem. Ainda mais fascinante para os microbiologistas é o fato de esses micro-organismos só poderem sobreviver devido a simbiontes menores ainda que vivem dentro e sobre eles, sem os quais os cupins não poderiam nem mesmo se movimentar. Estudando como um único cupim sobrevive, os microbiologistas desenvolveram um conhecimento totalmente novo sobre a simbiose.

A dependência dos cupins por bactérias que fixam nitrogênio e por protozoários, como o *Trichonympha sphaerica*, para digerir a celulose é um exemplo de endossimbiose, uma relação simbiótica com um organismo que viva dentro do hospedeiro (nesse caso, dentro do tubo digestório posterior do cupim).

O quadro é mais complicado do que isso, entretanto, uma vez que o próprio *T. sphaerica* não é capaz de digerir a celulose sem o auxílio da bactéria que vive dentro de seu organismo: em outras palavras, o protozoário tem a sua própria endossimbiose.

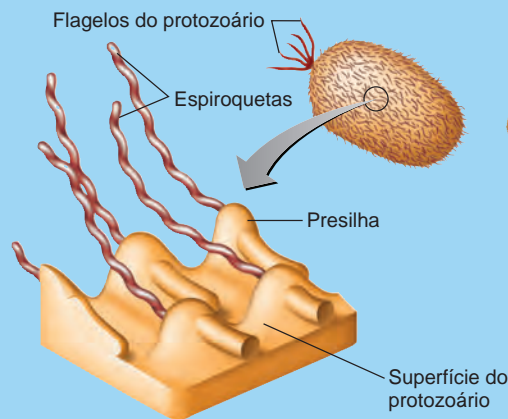
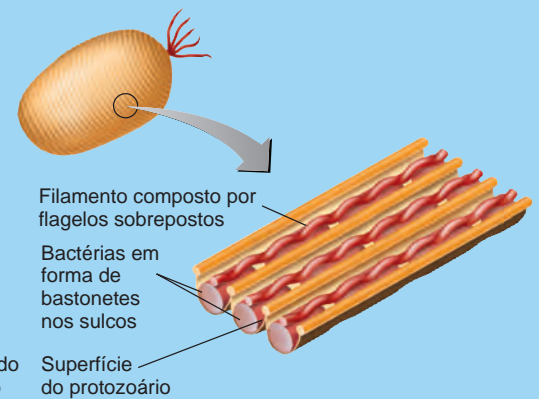
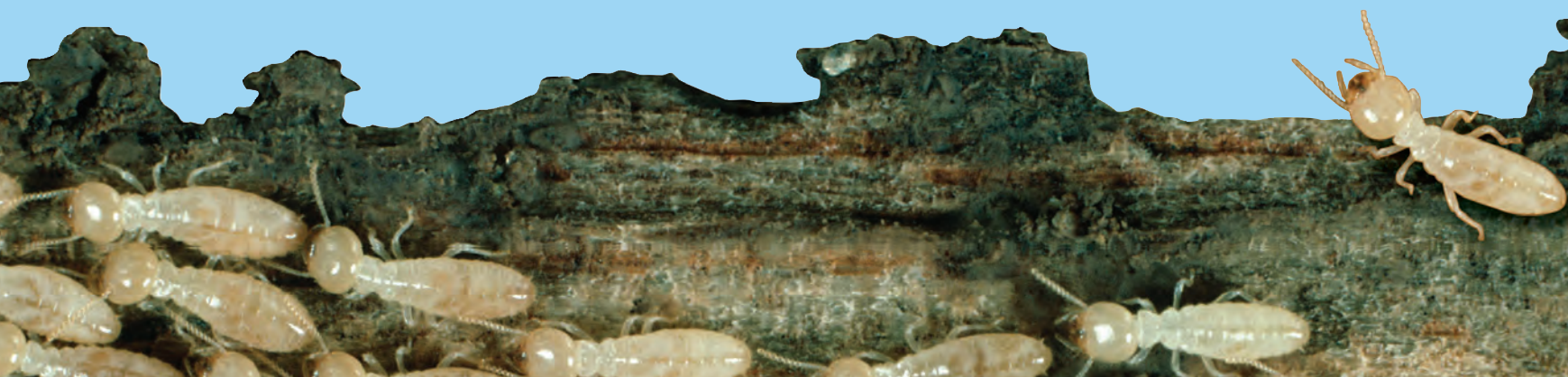
Certos flagelados do tubo digestório posterior, como o *T. sphaerica*, também demonstram outra forma de simbiose – a ectossimbiose, uma relação simbiótica com organismos que vivam fora do hospedeiro. Avanços recentes em microscopia mostraram que esses flagelados são recobertos por fileiras precisas de milhares de bactérias, sejam bastonetes ou espiroquetas. Se essas bactérias forem mortas, o protozoário ficará impossibilitado de se mover. Ao invés de utilizar os seus próprios flagelos para a locomoção, o protozoário conta com as fileiras de bactérias para movê-lo como se fossem remadores em um barco.

O protozoário *Mixotricha*, por exemplo, possui fileiras de espiroquetas em sua superfície. Como mostrado na parte (a) da figura, o final de cada espiroqueta fica preso a uma protuberância, conhecida como presilha. As espiroquetas ondulam em uníssono, criando, dessa forma, ondas de movimento ao longo da superfície do *Mixotricha*.

Bactérias em forma de bastão se alinham em sulcos que recobrem a superfície dos devescovinídeos, outro grupo de protozoários do tubo digestório posterior dos cupins. Cada bastonete possui doze flagelos que se sobrepõem aos flagelos das bactérias adjacentes para formar um filamento contínuo no sulco; veja a parte (b) da figura. As bactérias movem seus flagelos para criar ondas coordenadas ao longo de todas essas fileiras de filamentos e, dessa forma, impulsionar o protozoário.

Mixotricha, um protozoário que vive no trato digestório do cupim.

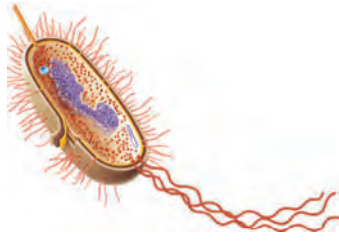
Sid Tamm e colaboradores na Universidade de Boston descobriram que o protozoário não pode controlar a mobilidade do ectossimbionte. *Mixotricha* usa seus flagelos para conduzir, e as bactérias movem o protozoário para a frente, empurrando e sendo empurradas por seus vizinhos, como carros que batem e voltam em parques de diversão.

Arranjo das bactérias na superfície de dois protozoários.

(a) Espiroquetas ligadas às presilhas na superfície do protozoário *Mixotricha* se alinham e movem-se em uníssono.

(b) Nesse protozoário devescovinídeo, os flagelos de uma bactéria em forma de bastonete se sobrepõem aos flagelos da bactéria seguinte para formar um filamento contínuo.

RESUMO PARA ESTUDO

Comparando as células procarióticas e eucarióticas: visão geral (p. 77)

1. As células procarióticas e eucarióticas são similares em sua composição química e reações químicas.
2. As células procarióticas não possuem organelas revestidas por membrana (incluindo um núcleo).
3. O peptideoglicano é encontrado nas paredes celulares procarióticas, mas não nas paredes celulares eucarióticas.
4. As células eucarióticas possuem um núcleo limitado por uma membrana e outras organelas.

A CÉLULA PROCARIÓTICA (p. 77-98)

1. As bactérias são unicelulares e a maioria delas se multiplica por fissão binária.
2. As espécies bacterianas são diferenciadas pela morfologia, pela composição química, pelas necessidades nutricionais, pelas atividades bioquímicas e pela fonte de energia.

O tamanho, a forma e o arranjo das células bacterianas (p. 77-79)

1. A maioria das bactérias tem de 0,2 a 2,0 mm de diâmetro e de 2 a 8 mm de comprimento.
2. As três formas bacterianas básicas são cocos (esféricos), bacilos (forma de bastão) e espiralada (retorcida).
3. As bactérias pleomórficas podem assumir várias formas.

Estruturas externas à parede celular (p. 79-84)

Glicocálice (p. 79-81)

1. O glicocálice (cápsula, camada viscosa ou polissacarídeo extracelular) é um polissacarídeo gelatinoso e/ou revestimento polipeptídico.
2. As cápsulas podem proteger os patógenos da fagocitose.
3. As cápsulas permitem a adesão a superfícies, impedem a dessecação e podem fornecer nutrientes.

Flagelos (p. 81, 82)

4. Os flagelos são apêndices filamentosos relativamente longos consistindo de um filamento, alça e corpo basal.
5. Os flagelos procarióticos giram para empurrar a célula.
6. As bactérias móveis apresentam taxia; taxia positiva é o movimento em direção a um atraente, e taxia negativa é o movimento para longe de um repelente.
7. A proteína flagelar (H) é um antígeno.

Filamentos axiais (p. 82, 83)

8. As células espirais que se movem por meio de um filamento axial (endoflagelo) são chamadas de espiroquetas.
9. Os filamentos axiais são similares aos flagelos, exceto que eles se envelam em torno da célula.

Fímbrias e *pili* (p. 83, 84)

10. As fímbrias ajudam as células a aderirem às superfícies.
11. Os *pili* estão envolvidos na mobilidade por translocação e na transferência de DNA.

A parede celular (p. 84-89)

Composição e características (p. 85-87)

1. A parede celular circunda a membrana plasmática e protege a célula das alterações na pressão de água.
2. A parede celular bacteriana possui peptideoglicana, um polímero composto de NAG e NAM e cadeias curtas de aminoácidos.
3. A penicilina interfere com a síntese de peptideoglicana.
4. As paredes celulares gram-positivas consistem em muitas camadas de peptideoglicana e também contêm ácidos teicoicos.
5. As bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa composta de lipopolissacarídeo-lipoproteína-fosfolipídeo, circundando uma fina camada de peptideoglicana.
6. A membrana externa protege a célula da fagocitose e da penicilina, da lisozima e de outras substâncias químicas.
7. As porinas são proteínas que permitem que pequenas moléculas possam passar através da membrana externa; canais de proteínas específicas permitem que outras moléculas se movam através da membrana externa.
8. O componente lipopolissacarídico que compõe a membrana externa contém açúcares (polissacarídeos O), que funcionam como antígenos, e lipídeo A, que é uma endotoxina.

Paredes celulares e mecanismo da coloração de Gram (p. 87)

9. O complexo cristal violeta-iodo se combina à peptideoglicana.
10. O descolorante remove o lipídeo da membrana externa das bactérias gram-negativas e lava a violeta de genciana.

Paredes celulares atípicas (p. 87, 88)

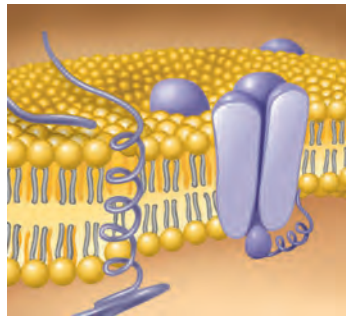
11. O *Mycoplasma* é um gênero bacteriano que não apresenta paredes celulares naturalmente.
12. As arquibactérias possuem pseudomureína; elas não apresentam peptideoglicana.
13. Paredes celulares álcool-ácido resistentes possuem uma camada de ácido micólico externa à fina camada de peptideoglicana.

Dano à parede celular (p. 88, 89)

14. Na presença de lisozima, as paredes celulares gram-positivas são destruídas e o conteúdo celular restante é denominado protoplasto.
15. Na presença de lisozima, as paredes celulares gram-negativas não são completamente destruídas e o conteúdo celular restante é denominado esferoplasto.
16. As formas L são bactérias gram-positivas ou gram-negativas que não produzem uma parede celular.
17. Os antibióticos como a penicilina interferem com a síntese da parede celular.

Estruturas internas à parede celular (p. 89-98)

A membrana plasmática (citoplasmática) (p. 89-91)

1. A membrana plasmática reveste o citoplasma e é uma camada dupla lipídica com proteínas integrais periféricas (modelo do mosaico fluido).
2. A membrana plasmática é seletivamente permeável.
3. As membranas plasmáticas contêm enzimas para reações metabólicas, como a degradação dos nutrientes, a produção de energia e a fotossíntese.
4. Os mesossomos, dobras irregulares da membrana plasmática, são artefatos, não estruturas celulares verdadeiras.
5. As membranas plasmáticas podem ser destruídas por alcoóis e polimixinas.

O movimento de materiais através das membranas (p. 91-94)

6. O movimento através da membrana pode ocorrer por processos passivos, nos quais os materiais se movem de áreas de maior para áreas de menor concentração, e nenhuma energia é gasta pela célula.
7. Na difusão simples, as moléculas e os íons se movem até o equilíbrio ser atingido.
8. Na difusão facilitada, as substâncias são carregadas por proteínas transportadoras através das membranas, de áreas de alta para áreas de baixa concentração.
9. Osmose é o movimento de água de áreas de alta para áreas de baixa concentração, através de uma membrana seletivamente semipermeável, até o equilíbrio ser atingido.
10. No transporte ativo, os materiais se movem das áreas de baixa para as áreas de alta concentração através das proteínas transportadoras, e a célula precisa gastar energia.
11. Na translocação de grupo, a energia é gasta para modificar as substâncias químicas e transportá-las através da membrana.

Citoplasma (p. 94)

12. O citoplasma é o componente líquido dentro da membrana plasmática.
13. O citoplasma é principalmente água, com moléculas inorgânicas e orgânicas, DNA, ribossomos e inclusões.

O nucleoide (p. 94, 95)

14. O nucleoide contém o DNA do cromossomo bacteriano.
15. As bactérias também podem conter plasmídeos, que são moléculas circulares de DNAs extracromossômicos.

Ribossomos (p. 95)

16. O citoplasma de um procarioto contém numerosos ribossomos 70S; os ribossomos são constituídos de rRNA e proteína.
17. A síntese proteica ocorre nos ribossomos; ela pode ser inibida por certos antibióticos.

Inclusões (p. 95, 96)

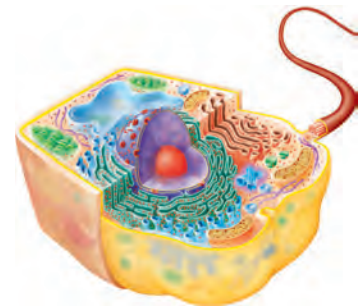
18. Inclusões são depósitos de reserva encontrados nas células procarióticas e eucarióticas.
19. Entre as inclusões encontradas nas bactérias, estão os grânulos metacromáticos (fosfato inorgânico), os grânulos de polissacarídeo (normalmente glicogênio ou amido), as inclusões lipídicas, os grânulos de enxofre, os carboxissomos (ribulose-1,5-difosfato-carboxilase), os magnetossomos (Fe_3O_4) e os vacúolos de gás.

Endosporos (p. 96-98)

20. Os endosporos são estruturas de repouso, formadas por algumas bactérias para a sobrevivência durante condições ambientais adversas.
21. O processo de formação do endosporo é denominado esporulação; o retorno de um endosporo ao seu estado vegetativo é denominado germinação.

A CÉLULA EUCARIÓTICA (p. 98-106)

Flagelos e cílios (p. 98)

1. Os flagelos são poucos e longos em relação ao tamanho da célula; os cílios são numerosos e curtos.
2. Os flagelos e os cílios são usados para a mobilidade, e os cílios também movem substâncias ao longo da superfície das células.
3. Os flagelos e os cílios consistem em um arranjo de nove pares e dois microtúbulos isolados.

A parede celular e o glicocálice (p. 98)

1. As paredes celulares de muitas algas e alguns fungos contêm celulose.
2. O principal material das paredes celulares fúngicas é a quitina.
3. As paredes celulares de leveduras são compostas de glicana e manana.
4. As células animais são circundadas por um glicocálice, que reforça a célula e fornece um meio de fixação para outras células.

A membrana plasmática (citoplasmática) (p. 100)

1. Assim como a membrana plasmática procariótica, a membrana plasmática eucariótica é uma bicamada de fosfolipídeos contendo proteínas.
2. As membranas plasmáticas eucarióticas contêm carboidratos aderidos a proteínas e esteróis não encontrados nas células procarióticas (exceto na bactéria *Mycoplasma*).
3. As células eucarióticas podem mover materiais através da membrana plasmática pelos processos passivos usados pelos procariotos, além do transporte ativo e da endocitose (fagocitose e pinocitose).

Citoplasma (p. 100, 101)

1. O citoplasma das células eucarióticas inclui tudo que está dentro da membrana plasmática e que é externo ao núcleo.
2. As características químicas do citoplasma das células eucarióticas lembram as do citoplasma das células procarióticas.
3. O citoplasma eucariótico possui um citoesqueleto e exibe corrente citoplasmática.

Ribossomos (p. 101, 102)

1. Os ribossomos 80S são encontrados no citoplasma ou aderidos ao retículo endoplasmático rugoso.

Organelas (p. 102-105)

1. As organelas são estruturas especializadas revestidas por membrana no citoplasma das células eucarióticas.
2. O núcleo, que contém DNA em forma de cromossomos, é a organela eucariótica mais característica.
3. O envelope nuclear está conectado ao sistema de membranas no citoplasma, denominado retículo endoplasmático (RE).
4. O RE fornece uma superfície para reações químicas, serve como uma rede de transporte e armazena moléculas sintetizadas. A síntese proteica e o transporte ocorrem no RE rugoso; a síntese de lipídeos ocorre no RE liso.
5. O complexo de Golgi consiste em sacos achatados chamados de cisternas. Eles atuam na formação da membrana e na secreção de proteínas.
6. Os lisossomos são formados a partir dos complexos de Golgi. Eles armazenam enzimas digestivas.
7. Os vacúolos são cavidades revestidas por membrana, derivadas do complexo de Golgi ou endocitose. Eles geralmente são encontrados em células vegetais, que armazenam várias substâncias, ajudam a conduzir o alimento para dentro da célula, aumentam o tamanho celular e fornecem rigidez para as folhas e os caules.
8. As mitocôndrias são os sítios primários de produção de ATP. Elas contêm ribossomos 70S e DNA, e se multiplicam por fissão binária.

9. Os cloroplastos contêm clorofila e enzimas para a fotossíntese. Assim como as mitocôndrias, eles contêm ribossomos 70S e DNA, e se multiplicam por fissão binária.
10. Uma variedade de componentes orgânicos é oxidada nos peroxissomos. A catalase nos peroxissomos destrói o H_2O_2.
11. O centrossomo é constituído pelo material pericentriolar e os centríolos. Os centríolos são nove microtúbulos triplos envolvidos na formação do fuso mitótico e dos microtúbulos.

A evolução dos eucariotos (p. 105, 106)

1. De acordo com a teoria endossimbiótica, as células eucarióticas evoluíram de procariotos simbióticos vivendo dentro de outras células procarióticas.

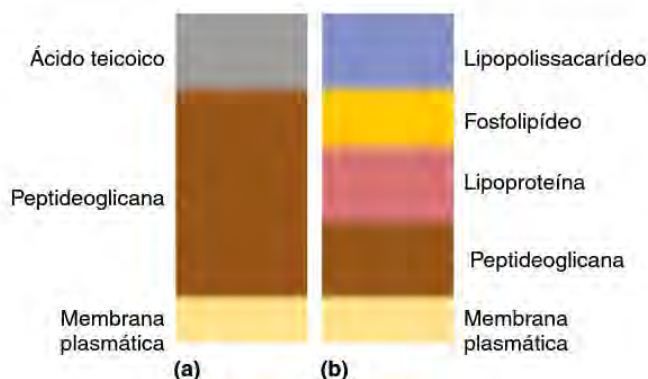
QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e de múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Faça um diagrama de cada um dos seguintes arranjos flagelares:
   a. Lofotríqueo.
   b. Monotríqueo.
   c. Peritríqueo.
   d. Anfitríqueo
   e. Polar
2. A formação de endosporos é denominada **(a)**__________. Ela é iniciada por **(b)**______________. A formação de uma nova célula a partir de um endosporo é denominada **(c)** ___________. Esse processo é desencadeado por **(d)** _________.
3. **DESENHE** Desenhe as formas bacterianas listadas em (a), (b) e (c). Então desenhe as formas em (d), (e) e (f), mostrando como elas são condições especiais de a, b e c, respectivamente.
   a. Espiral.
   b. Bacilo.
   c. Coco.
   d. Espiroquetas.
   e. Estreptobacilos.
   f. Estafilococos.
4. Combine as estruturas na coluna A com suas funções na coluna B.

Coluna A	Coluna B
____ **a.** Parede celular	**1.** Adesão à superfície
____ **b.** Endosporo	**2.** Formação da parede celular
____ **c.** Fímbrias	**3.** Mobilidade
____ **d.** Flagelos	**4.** Proteção da lise osmótica
____ **e.** Glicocálice	**5.** Proteção dos fagócitos
____ **f.** *Pili*	**6.** Repouso
____ **g.** Membrana plasmática	**7.** Síntese proteica
____ **h.** Ribossomos	**8.** Permeabilidade seletiva
	9. Transferência de material genético

5. Por que um endosporo é denominado uma estrutura em repouso? Qual a vantagem do endosporo para uma célula bacteriana?
6. Compare e contraste os seguintes:
   a. Difusão simples e difusão facilitada.
   b. Transporte ativo e difusão facilitada.
   c. Transporte ativo e translocação de grupo.
7. Responda às seguintes questões utilizando os diagramas fornecidos, que representam secções cruzadas das paredes celulares bacterianas.
   a. Qual diagrama representa uma bactéria gram-positiva? Como você pode saber?

b. Explique como a coloração de Gram funciona para diferenciar entre estes dois tipos de paredes celulares.
c. Por que a penicilina não tem efeito sobre as células gram-negativas?
d. Como as moléculas essenciais penetram na célula através de cada parede?
e. Qual parede celular é tóxica aos seres humanos?

8. O amido é rapidamente metabolizado por muitas células, mas uma molécula de amido é muito grande para atravessar a membrana plasmática. Como a célula obtém as moléculas de glicose a partir do polímero de amido? Como as células transportam essas moléculas de glicose através da membrana plasmática?
9. Combine as características das células eucarióticas na coluna A com suas funções na coluna B.

Coluna A	Coluna B
____ a. Material pericentriolar	1. Armazenamento de enzimas digestivas
____ b. Cloroplastos	2. Oxidação de ácidos graxos
____ c. Complexo de Golgi	3. Formação de microtúbulos
____ d. Lisossomos	4. Fotossíntese
____ e. Mitocôndrias	5. Síntese de proteínas
____ f. Peroxissomos	6. Respiração
____ g. RE rugoso	7. Secreção

Múltipla escolha

1. Qual das seguintes *não* é uma característica diferencial das células procarióticas?
   a. Elas possuem um cromossomo circular único.
   b. Elas não possuem organelas revestidas por membrana.
   c. Elas possuem paredes celulares contendo peptideoglicana.
   d. Seu DNA não está associado a histonas.
   e. Elas não possuem membrana plasmática.

Utilize as seguintes opções para responder as questões 2 a 4:
   a. Não ocorrerá alteração; a solução é isotônica.
   b. A água entrará na célula.
   c. A água sairá da célula.
   d. A célula sofrerá lise osmótica.
   e. A sacarose entrará na célula, de uma área de maior concentração para uma de menor concentração.

2. Que frase descreve melhor o que acontece quando uma bactéria gram-positiva é colocada em água destilada e penicilina?
3. Que frase descreve melhor o que acontece quando uma bactéria gram-negativa é colocada em água destilada e penicilina?
4. Que frase descreve melhor o que ocorre quando uma bactéria gram-positiva é colocada em uma solução aquosa de lisozima e sacarose a 10%?
5. Qual das seguintes frases descreve melhor o que ocorre a uma célula exposta a polimixinas, que destroem os fosfolipídeos?
   a. Em uma solução isotônica, nada acontecerá.
   b. Em uma solução hipotônica, a célula irá sofrer lise.
   c. A água entrará na célula.
   d. O conteúdo intracelular vazará da célula.
   e. Qualquer das alternativas acima pode ocorrer.
6. Qual das afirmações seguintes *não* é verdadeira sobre as fímbrias?
   a. Elas são compostas de proteína.
   b. Elas podem ser usadas para fixação.
   c. Elas são encontradas em células gram-negativas.
   d. Elas são compostas de pilina.
   e. Elas podem ser usadas para motilidade.
7. Qual dos seguintes pares está incorreto?
   a. Glicocálice – aderência.
   b. *Pili* – reprodução.
   c. Parede celular – toxina.
   d. Parede celular – proteção.
   e. Membrana plasmática – transporte.
8. Qual dos seguintes pares está incorreto?
   a. Grânulos metacromáticos – fosfatos armazenados.
   b. Grânulos de polissacarídeo – amido armazenado.
   c. Inclusões de lipídeo – ácido poli-β-hidroxibutírico.
   d. Grânulos de enxofre – reserva de energia.
   e. Ribossomos – armazenamento de proteínas.
9. Você isolou uma célula móvel, gram-positiva, sem núcleo visível. Você pode presumir que esta célula tem:
   a. Ribossomos.
   b. Mitocôndrias.
   c. Um retículo endoplasmático.
   d. Um complexo de Golgi.
   e. Todas as alternativas acima.
10. O antibiótico anfotericina B rompe as membranas plasmáticas por se combinar com os esteróis; ele afetará todas as seguintes células, *exceto*:
   a. Células animais.
   b. Células bacterianas.
   c. Células fúngicas.
   d. Células de *Mycoplasma*.
   e. Células vegetais.

Pensamento crítico

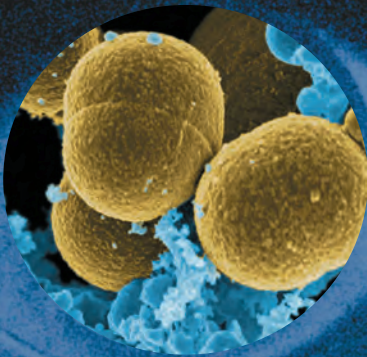
1. Como as células procarióticas podem ser menores que as células eucarióticas e ainda realizar todas as funções vitais?
2. A menor célula eucariótica é a alga móvel *Micromonas*. Qual é o número mínimo de organelas que essa alga deve ter?
3. Dois tipos de células procarióticas foram diferenciados: bactérias e arquibactérias. Como essas células diferem uma da outra e em que são similares?
4. Em 1985, uma célula de 0,5 mm foi descoberta em um peixe, sendo denominada *Epulopiscium fishelsoni* (veja a Figura 11.16 na página 316). Presumiu-se que seria um protozoário. Em 1993, pesquisadores determinaram que o *Epulopiscium* era na verdade uma bactéria gram-positiva. Por que este organismo foi inicialmente identificado como um protozoário? Que evidências poderiam alterar a classificação para uma bactéria?
5. Quando células de *E. coli* são expostas a uma solução hipertônica, as bactérias produzem uma proteína transportadora que pode mover íons potássio (K^+) para dentro da célula. Qual o valor do transporte ativo de K^+, que requer ATP?

Aplicações clínicas

1. Uma criança com uma infecção hematogênica por *Neisseria* foi tratada com gentamicina. Após o tratamento, a *Neisseria* não pode mais ser cultivada de seu sangue, indicando que as bactérias foram mortas. Contudo, seus sintomas pioraram. Anualmente, quase metade dos pacientes em condições semelhantes morre. Explique porque o tratamento com antibióticos fez os sintomas da criança aumentarem.
2. O *Clostridium botulinum* é um anaeróbico estrito; isto é, ele é morto pelo oxigênio molecular (O_2) presente no ar. Os seres humanos podem morrer de botulismo ao ingerir alimentos em que o *C. botulinum* está crescendo. Como essa bactéria sobrevive nas plantas colhidas para consumo humano? Por que os alimentos em conserva caseiros são a fonte mais frequente de botulismo?
3. Em um período de três dias em um grande hospital, cinco pacientes que realizaram hemodiálise desenvolveram febre e calafrios. *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* foram isolados de três dos pacientes. *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae e Pantoea agglomerans* foram isolados do sistema de diálise. Por que todas as três bactérias causam sintomas similares?
4. Uma criança do sul de São Francisco gostava da hora do banho em sua casa, devido à coloração laranja e vermelha da água. A água não apresentava essa cor de ferrugem em sua fonte, e o departamento de água não podia cultivar a bactéria *Thiobacillus* responsável pela cor ferruginosa da fonte. Como as bactérias entraram no encanamento de água corrente da casa? Que estruturas bacterianas tornam isto possível?
5. Culturas vivas de *Bacillus thuringiensis* (Dipel) e *B. subtilis* (Kodiac) são vendidas como pesticidas. Que estruturas bacterianas tornam possível embalar e vender estas bactérias? Para que fim cada produto é usado? (*Dica*: Consulte o Capítulo 11.)

5 Metabolismo Microbiano

Agora que você está familiarizado com a estrutura das células procarióticas, podemos discutir as atividades que capacitam estes micro-organismos a se desenvolverem. Os processos de suporte de vida mesmo do organismo mais simples estruturalmente envolvem um grande número de reações bioquímicas complexas. A maioria dos processos bioquímicos das bactérias também ocorre nos micro-organismos eucarióticos e nas células dos organismos pluricelulares, incluindo os seres humanos. Contudo, as reações que são únicas para as bactérias são fascinantes, pois permitem que os micro-organismos façam coisas que não podemos fazer. Por exemplo, algumas bactérias podem se alimentar de celulose, enquanto outras podem utilizar petróleo como nutriente. Com este metabolismo, as bactérias reciclam elementos depois que outros organismos os usaram. Outras bactérias ainda podem viver utilizando substâncias inorgânicas como dióxido de carbono, ferro, enxofre, gás hidrogênio e amônia.

Este capítulo examina algumas reações químicas representativas que produzem energia (reações catabólicas) ou que usam energia (reações anabólicas) nos micro-organismos. Veremos também como estas várias reações são integradas dentro da célula.

SOB O MICROSCÓPIO

E. coli O157:H7. Essa bactéria causa uma das mais graves doenças relacionadas à contaminação de alimento, chamada de síndrome hemolítico-urêmica (SHU), uma complicação na qual os rins falham.

P&R

E. coli O157. A *Escherichia coli* é um importante membro da microbiota do intestino grosso, mas a *E. coli* O157 causa diarreia grave e colite hemorrágica. Portanto, é importante diagnosticar *E. coli* O157 para tratar o paciente e determinar a fonte da infecção. Contudo, todas as *E. coli* são parecidas no microscópio; desse modo, como a *E. coli* O157 pode ser diferenciada?

Procure pela resposta neste capítulo.

Reações catabólicas e anabólicas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

5-1 Definir metabolismo e descrever as diferenças fundamentais entre anabolismo e catabolismo.

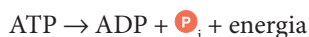
5-2 Identificar o papel do ATP como um intermediário entre catabolismo e anabolismo.

Usamos o termo **metabolismo** para nos referirmos à soma de todas as reações químicas dentro de um organismo vivo. Como as reações químicas tanto liberam quanto requerem energia, o metabolismo pode ser visto como um ato de balanceamento de energia. Consequentemente, o metabolismo pode ser dividido em duas classes de reações químicas: aquelas que liberam energia e aquelas que requerem energia.

Nas células vivas, as reações químicas reguladas por enzimas que liberam energia geralmente são aquelas envolvidas no **catabolismo**, a quebra de compostos orgânicos complexos em compostos mais simples. Essas reações são chamadas de reações *catabólicas* ou *degradativas*. As reações catabólicas em geral são reações hidrolíticas (reações que utilizam água e nas quais ligações químicas são quebradas) e são exergônicas (produzem mais energia do que consomem). Um exemplo de catabolismo ocorre quando as células quebram açúcares em dióxido de carbono e água.

As reações reguladas por enzimas que requerem energia estão envolvidas principalmente no **anabolismo**, a construção de moléculas orgânicas complexas a partir de moléculas mais simples. Essas reações são chamadas de reações *anabólicas* ou *biossintéticas*. Os processos anabólicos muitas vezes envolvem reações de síntese por desidratação (reações que liberam água) e são *endergônicos* (consomem mais energia do que produzem). Exemplos de processos anabólicos são as formações de proteínas a partir de aminoácidos, de ácidos nucleicos a partir de nucleotídeos, e de polissacarídeos a partir de açúcares simples. Esses processos biossintéticos geram os materiais para o crescimento celular.

As reações catabólicas fornecem os blocos construtivos para as reações anabólicas e a energia necessária para dirigi-las. Esse acoplamento de reações que requerem energia e liberam energia é possível pela molécula de trifosfato de adenosina (ATP) (você pode revisar essa estrutura na Figura 2.18, página 49). O ATP armazena a energia derivada de reações catabólicas e a libera posteriormente para dirigir as reações anabólicas ou realizar outros trabalhos celulares. Lembre-se do Capítulo 2 que uma molécula de ATP consiste em uma adenina, uma ribose e três grupos fosfato. Quando o grupo fosfato terminal é retirado do ATP, difosfato de adenosina (ADP) é formado, e a energia é liberada para dirigir as reações anabólicas. Usando Ⓟ para representar o grupo fosfato (Ⓟ$_i$ representa o fosfato inorgânico, que não é ligado a nenhuma outra molécula), escrevemos esta reação como segue:

$$\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{Ⓟ}_i + \text{energia}$$

Então, a energia das reações catabólicas é utilizada para combinar ADP e um Ⓟ para re-sintetizar ATP:

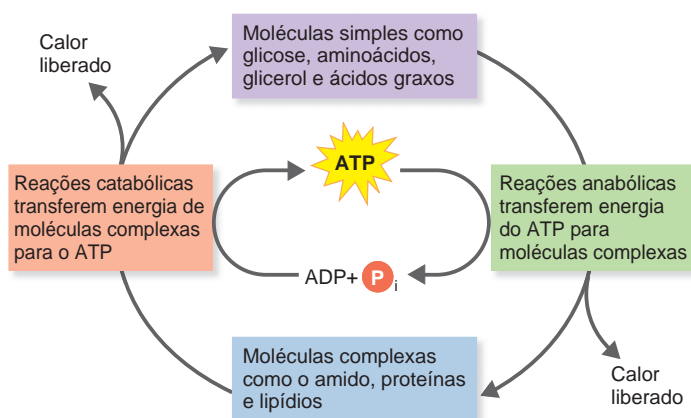
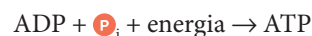



Figura 5.1 O papel do ATP no acoplamento das reações anabólicas e catabólicas. Quando moléculas complexas são quebradas (catabolismo), parte da energia é transferida e captada no ATP, e o restante é liberado como calor. Quando moléculas simples são combinadas para formar moléculas complexas (anabolismo), o ATP fornece a energia para a síntese, e outra vez parte da energia é liberada como calor.

P Que moléculas facilitam o acoplamento de reações catabólicas e anabólicas?

$$\text{ADP} + \text{Ⓟ}_i + \text{energia} \rightarrow \text{ATP}$$

Assim, as reações anabólicas são acopladas à quebra do ATP, e as reações catabólicas são acopladas à síntese do ATP. Esse conceito de reações acopladas é muito importante; você verá porque no final deste capítulo. Por agora, você precisa saber que a composição química de uma célula viva está mudando constantemente; algumas moléculas são quebradas enquanto outras são sintetizadas. Esse fluxo balanceado de compostos químicos e de energia mantém a vida de uma célula.

O papel do ATP no acoplamento de reações anabólicas e catabólicas é mostrado na **Figura 5.1**. Somente parte da energia liberada no catabolismo está disponível para as funções celulares, pois parte da energia é perdida no ambiente como calor. Como uma célula precisa de energia para se manter viva, ela tem uma necessidade constante de novas fontes externas dessa energia.

Antes de discutirmos como as células produzem energia, primeiro consideraremos as principais propriedades de um grupo de proteínas envolvidas em quase todas as reações biologicamente importantes: as enzimas. As **vias metabólicas** da célula (sequências de reações químicas) são determinadas por suas enzimas, que por sua vez são determinadas pela constituição genética da célula.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Diferencie catabolismo de anabolismo. **5-1**

✓ Como o ATP é um intermediário entre o catabolismo e o anabolismo? **5-2**

Enzimas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

5-3 Identificar os componentes de uma enzima.
5-4 Descrever o mecanismo da ação enzimática.
5-5 Listar os fatores que influenciam a atividade enzimática.
5-6 Diferenciar inibição competitiva e não competitiva.
5-7 Definir ribozima.

Teoria de colisão

Indicamos no Capítulo 2 que as reações químicas ocorrem quando ligações químicas são formadas ou quebradas. Para as reações ocorrerem, átomos, íons ou moléculas devem colidir. A **teoria de colisão** explica como as reações químicas ocorrem e como certos fatores afetam a taxa dessas reações. A base da teoria de colisão é que todos os átomos, íons e moléculas estão em movimento constante e que, portanto, colidem constantemente uns com os outros. A energia transferida pelas partículas na colisão pode romper suas estruturas eletrônicas o suficiente para quebrar as ligações químicas ou formar novas ligações.

Diversos fatores determinam se uma colisão irá causar uma reação química: a velocidade das partículas colidindo, sua energia e suas configurações químicas específicas. Até certo ponto, quanto mais velozes as partículas estiverem, maior é a probabilidade de que sua colisão provoque uma reação. Além disso, cada reação química requer um nível específico de energia. Contudo, mesmo que as partículas em colisão tenham a energia mínima necessária para a reação, nenhuma reação ocorrerá a menos que as partículas estejam corretamente orientadas uma em relação à outra.

Vamos presumir que moléculas da substância AB (o reagente) serão convertidas em moléculas das substâncias A e B (os produtos). Em uma dada população de moléculas da substância AB, em uma temperatura específica, algumas moléculas têm relativamente pouca energia; a maioria da população tem uma quantidade média de energia; e uma pequena parcela da população tem alta energia. Se apenas as moléculas AB de alta energia forem capazes de reagir para serem convertidas em moléculas A e B, então somente uma quantidade pequena de moléculas possui energia suficiente para reagir em uma colisão em um determinado momento. A energia de colisão requerida para uma reação química é sua **energia de ativação**, que é a quantidade de energia necessária para romper a estabilidade da configuração eletrônica de qualquer molécula específica para que os elétrons possam ser reorganizados.

A **taxa de reação** – a frequência das colisões contendo energia suficiente para que a reação aconteça – depende do número de moléculas reagentes que estejam no nível da energia de ativação ou acima dela. Uma maneira de aumentar a taxa de reação de uma substância é elevar sua temperatura. Ao fazer as moléculas se moverem mais rapidamente, o calor aumenta tanto a frequência das colisões quanto o número de moléculas que atingem o nível da energia de ativação. O número de colisões também aumenta quando a pressão é aumentada ou quando os reagentes estão mais concentrados (pois a distância entre as moléculas é, dessa forma, reduzida). Nos sistemas vivos, as enzimas aumentam a taxa de reação sem elevar a temperatura.

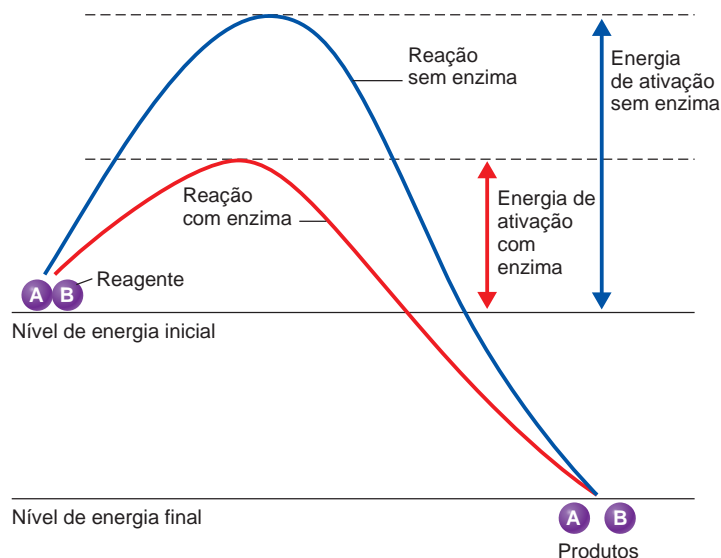



Figura 5.2 Energia necessária para uma reação química. Esse gráfico mostra o progresso da reação AB → A + B sem (linha azul) e com (linha vermelha) uma enzima. A presença de uma enzima reduz a energia de ativação da reação (veja as setas). Portanto, mais moléculas do reagente AB são convertidas nos produtos A e B uma vez que mais moléculas do reagente AB têm a energia de ativação necessária para a reação.

P **Como as enzimas aceleram as reações químicas?**

Enzimas e reações químicas

As substâncias que podem acelerar uma reação química sem que ela seja alterada são chamadas de **catalisadores.** Nas células vivas, as **enzimas** servem de catalisadores biológicos. Como catalisadores, as enzimas são específicas. Cada uma atua em uma substância específica, chamada de **substrato** da enzima (ou substratos, quando há dois ou mais reagentes), e cada uma catalisa apenas uma reação. Por exemplo, a sacarose (açúcar de mesa) é o substrato da enzima sacarase, que catalisa a hidrólise da sacarose para glicose e frutose.

Como catalisadores, as enzimas tipicamente aceleram as reações químicas. A molécula tridimensional da enzima tem um *sítio ativo*, uma região que interage com uma substância química específica (veja a Figura 5.4 na página 118).

A enzima orienta o substrato para uma posição que aumente a probabilidade de uma reação. O complexo **enzima-substrato** formado pela ligação temporária da enzima com os reagentes permite que as colisões sejam mais eficientes e diminui a energia de ativação da reação (**Figura 5.2**). A enzima, dessa forma, acelera a reação ao aumentar o número de moléculas AB que atingem a energia de ativação necessária para que haja uma reação.

A capacidade da enzima de acelerar uma reação sem a necessidade de elevar a temperatura é crucial para os sistemas vivos, porque um aumento significativo da temperatura poderia destruir as proteínas celulares. A função crucial das enzimas, portanto, é acelerar as reações bioquímicas a uma temperatura que seja compatível com o funcionamento normal da célula.

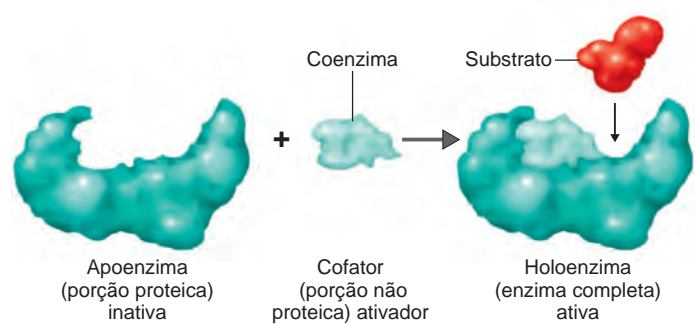



Figura 5.3 Componentes de uma holoenzima. Muitas enzimas requerem tanto uma apoenzima (porção proteica) como um cofator (porção não proteica) para tornarem-se ativas. O cofator pode ser um íon metálico ou uma molécula inorgânica chamada de coenzima (como mostrado aqui). A apoenzima e o cofator juntos formam a holoenzima, ou enzima completa. O substrato é o reagente em que a enzima atua.

P Quais substâncias geralmente funcionam com coenzimas?

Especificidade e eficiência enzimática

A especificidade das enzimas é possibilitada por suas estruturas. As enzimas geralmente são grandes proteínas globulares que variam em peso molecular de cerca de 10 mil a vários milhões. Cada uma das milhares de enzimas conhecidas tem uma forma tridimensional característica com uma configuração de superfície específica resultante de suas estruturas primária, secundária e terciária (veja a Figura 2.15, página 46). A configuração única de cada enzima permite que elas "encontrem" o substrato correto dentre o grande número de diversas moléculas nas células.

As enzimas são extremamente eficientes. Sob condições ótimas, elas podem catalisar reações com velocidades de 10^8 a 10^{10} vezes (até 10 bilhões de vezes) maiores que aquelas de reações sem enzimas. O **número de *turnover*** (número máximo de moléculas de substrato que uma molécula de enzima converte em produto em cada segundo) geralmente é de 1 a 10.000, podendo ser tão alto quanto 50 mil. Por exemplo, a enzima DNA-polimerase I, que participa da síntese de DNA, tem um número de *turnover* de 15, enquanto a enzima lactato-desidrogenase, que remove átomos de hidrogênio do ácido láctico, tem um números de *turnover* de 1.000.

Muitas enzimas existem na célula nas formas ativa e inativa. A velocidade com que as enzimas trocam de uma forma para outra é determinada pelo ambiente celular.

Nomenclatura das enzimas

Os nomes das enzimas em geral terminam em *-ase*. Todas as enzimas podem ser agrupadas em seis classes, de acordo com o tipo de reação química que elas catalisam (Tabela 5.1). As enzimas dentro de cada uma das principais classes são denominadas de acordo com os mais específicos tipos de reações que elas auxiliam. Por exemplo, a classe chamada de oxidorredutase está envolvida nas reações de oxidação-redução (descritas em breve). As enzimas na classe oxidorredutase que removem hidrogênio a partir de um substrato são chamadas de *desidrogenases*; aquelas que adicionam oxigênio molecular (O_2) são chamadas de *oxidases*. Como você verá mais tarde, as enzimas desidrogenase e oxidase têm nomes ainda mais específicos, tais como lactato-desidrogenase e citocromo-oxidase, dependendo dos substratos específicos em que elas atuam.

Componentes das enzimas

Embora algumas enzimas consistam inteiramente de proteínas, a maioria apresenta uma porção proteica chamada de **apoenzima** e um componente não proteico chamado de **cofator**. Íons de ferro, zinco, magnésio ou cálcio são exemplos de cofatores. Se o cofator é uma molécula inorgânica, é chamado de **coenzima**. As apoenzimas são inativas sozinhas; elas devem ser ativadas por cofatores. Juntos, a apoenzima e o cofator formam a **holoenzima**, ou enzima completa ativa (Figura 5.3). Se o cofator for removido, a apoenzima não funcionará.

As coenzimas podem auxiliar a enzima aceitando átomos removidos do substrato ou doando átomos requeridos pelo subs-

Tabela 5.1 Classificação das enzimas com base no tipo de reação química catalisada

Classe	Tipo de reação química catalisada	Exemplos
Oxidorredutase	Oxidação-redução em que oxigênio e hidrogênio são ganhos ou perdidos	Citocromo-oxidase, lactato-desidrogenase
Transferase	Transferência de grupos funcionais, como um grupo amino, grupo acetil ou grupo fosfato	Acetato-quinase, alanina-deaminase
Hidrolase	Hidrolise (adição de água)	Lipase, sacarase
Liase	Remoção de grupos de átomos sem hidrólise	Oxalato-descarboxilase, isocitrato-liase
Isomerase	Rearranjo de átomos dentro de uma molécula	Glicose-fosfato-isomerase, alanina-racemase
Ligase	União de duas moléculas (utilizando a energia geralmente derivada da quebra do ATP)	Acetil-CoA-sintase, DNA-ligase

Tabela 5.2 Vitaminas selecionadas e suas funções coenzimáticas

Vitamina	Função
Vitamina B_1 (tiamina)	Parte da coenzima cocarboxilase; tem muitas funções, incluindo o metabolismo do ácido pirúvico
Vitamina B_2 (riboflavina)	Coenzima em flavoproteínas; ativa na transferência de elétrons
Niacina (ácido nicotínico)	Parte da molécula de NAD*; ativa na transferência de elétrons
Vitamina B_6 (piridoxina)	Coenzima no metabolismo de aminoácidos
Vitamina B_{12} (cianocobalamina)	Coenzima (metil-cianocobalamina) envolvida na transferência de grupos metil; ativa no metabolismo de aminoácidos
Ácido pantotênico	Parte da molécula da coenzima A; envolvida no metabolismo do ácido pirúvico e dos lipídeos
Biotina	Envolvida nas reações de fixação do dióxido de carbono e na síntese de ácidos graxos
Ácido fólico	Coenzima utilizada na síntese de purinas e pirimidinas
Vitamina E	Necessária para a síntese celular e macromolecular
Vitamina K	Coenzima utilizada no transporte de elétrons (naftoquinonas e quinonas)

* NAD = Nicotinamida adenina dinucleotídeo.

trato. Algumas coenzimas atuam como carreadores de elétrons, removendo-os do substrato e os doando para outras moléculas em reações subsequentes. Muitas coenzimas são derivadas de vitaminas (Tabela 5.2). Duas das mais importantes coenzimas no metabolismo celular são a **nicotinamida adenina dinucleotídeo** (**NAD^+**) e a **nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato** (**$NADP^+$**). Ambos os compostos contêm derivados da vitamina B niacina (ácido nicotínico), e ambos funcionam como carreadores de elétrons. Enquanto a NAD^+ está basicamente envolvida em reações catabólicas (produzem energia), a $NADP^+$ está envolvida em reações anabólicas (requerem energia). As coenzimas flavinas, tais como a **flavina mononucleotídeo** (**FMN**) e a **flavina adenina dinucleotídeo** (**FAD**), contêm um derivado da vitamina B riboflavina e são também carreadores de elétrons. Outra importante coenzima, a **coenzima A** (**CoA**), contém um derivado do ácido pantotênico, outra vitamina A. Essa coenzima possui um importante papel na síntese e na degradação das gorduras em uma série de reações de oxidação chamada de ciclo de Krebs. Veremos todas essas coenzimas em nossa discussão sobre metabolismo a seguir neste capítulo.

Como mencionado anteriormente, alguns cofatores são íons metálicos, incluindo ferro, cobre, magnésio, manganês, zinco, cálcio e cobalto. Tais cofatores podem auxiliar na catálise de uma reação pela formação de uma ponte entre a enzima e o substrato. Por exemplo, o magnésio (Mg^{2+}) é requerido por muitas enzimas fosforilativas (enzimas que transferem um grupo fosfato do ATP para outro substrato). O Mg^{2+} pode formar uma ligação entre a enzima e a molécula de ATP. A maior parte dos elementos traços requeridos pelas células vivas provavelmente seja utilizada dessa maneira para ativar as enzimas celulares.

O mecanismo da ação enzimática

As enzimas diminuem a energia de ativação das reações químicas. A sequência geral dos eventos na ação enzimática é como segue (Figura 5.4a):

1. A superfície do substrato entra em contato com uma região específica da superfície da molécula da enzima, chamada de **sítio ativo**.
2. Um composto intermediário temporário é formado, chamado de **complexo enzima-substrato**.
3. A molécula de substrato é transformada pelo rearranjo dos átomos existentes, pela quebra da molécula de substrato, ou pela combinação com outra molécula de substrato.
4. As moléculas de substrato transformadas – os produtos da reação – são liberadas da molécula da enzima porque elas não se encaixam mais no sítio ativo da enzima.
5. A enzima inalterada está agora livre para reagir com outras moléculas de substrato.

Com resultados desses eventos, uma enzima acelera uma reação química.

Como mencionado anteriormente, as enzimas têm *especificidade* para substratos específicos. Por exemplo, uma determinada enzima pode ser capaz de hidrolisar uma ligação peptídica entre dois aminoácidos específicos. Outras enzimas podem hidrolisar amido, mas não celulose; apesar do amido e da celulose serem polissacarídeos compostos de subunidades de glicose, as orientações das subunidades nos dois polissacarídeos diferem. As enzimas têm esta especificidade porque a configuração tridimensional do sítio ativo encaixa com o substrato como uma fechadura encaixa com sua chave (Figura 5.4b). Contudo, o sítio ativo e o substrato são fle-

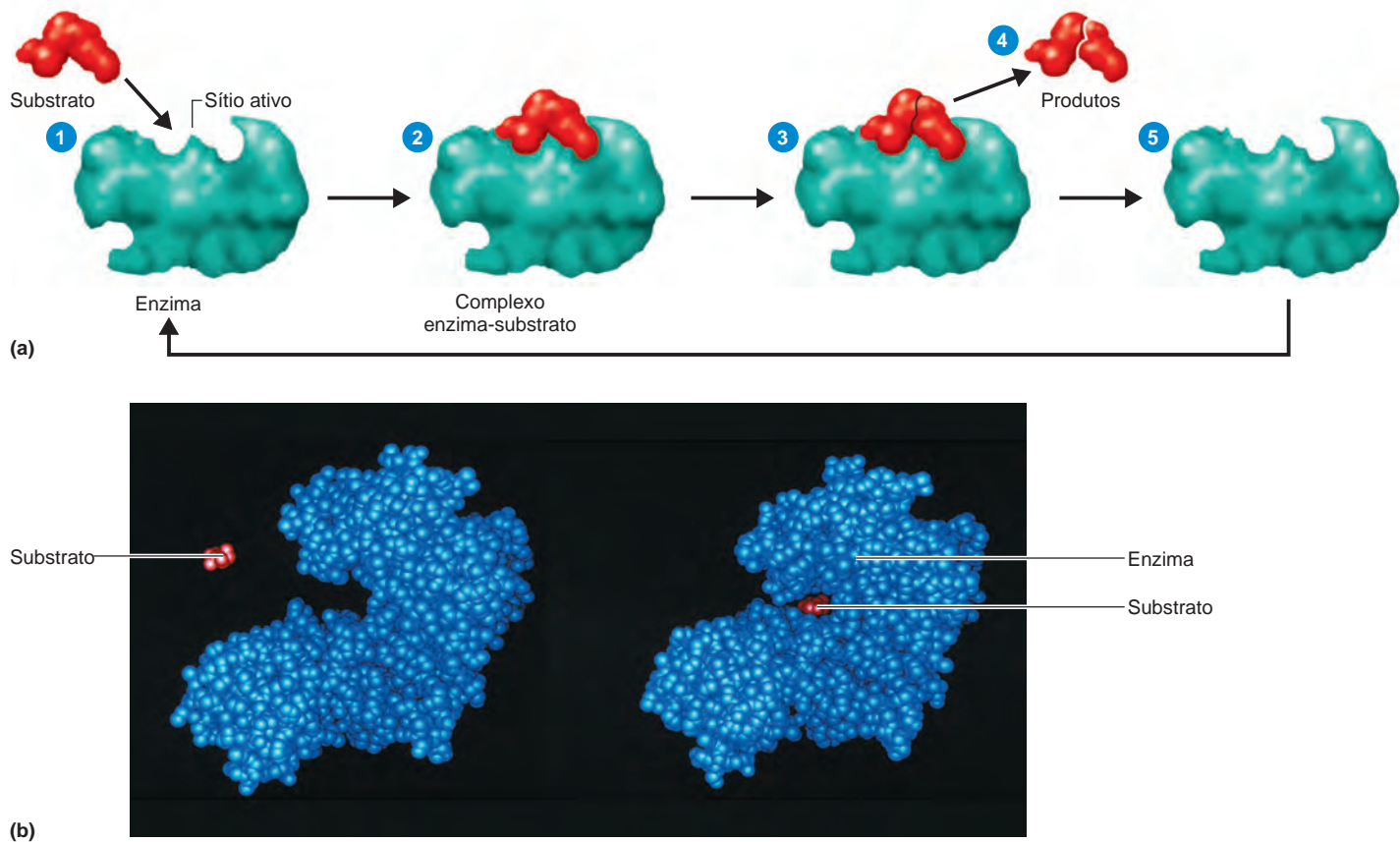



Figura 5.4 **O mecanismo da ação enzimática. (a)** 1 O substrato entra em contato com o sítio ativo na enzima para formar 2 o complexo enzima-substrato. 3 O substrato é então transformado em produtos, 4 os produtos são liberados e 5 a enzima é recuperada inalterada. No exemplo apresentado, a transformação em produtos envolve a quebra do substrato em dois produtos. Outras transformações, contudo, podem ocorrer. **(b)** Esquerda: um modelo molecular de uma enzima na etapa 1 da parte (a). O sítio ativo da enzima pode ser visto aqui como uma ranhura na superfície da proteína. Direita: como a enzima e o substrato encontram-se na etapa 2 da parte (a), a enzima muda ligeiramente de forma para se ajustar mais firmemente ao substrato.

P Qual a função das enzimas em um organismo vivo?

xíveis, e eles modificam um pouco a sua forma quando se encontram para se encaixarem mais firmemente. O substrato é em geral bem menor que a enzima, e relativamente poucos aminoácidos da enzima participam do sítio ativo.

Um certo composto pode ser o substrato de muitas enzimas diferentes que catalisam reações diferentes, assim o destino de um composto depende da enzima que atua sobre ele. Pelo menos quatro enzimas diferentes podem atuar na glicose-6-fosfato, uma molécula importante no metabolismo celular, e cada reação produz um produto diferente.

Fatores que influenciam a atividade enzimática

As enzimas estão sujeitas a diversos controles celulares. Dois tipos principais são o controle da *síntese* enzimática (veja o Capítulo 8) e o controle da *atividade* enzimática (quanto da enzima está presente *versus* o quão ativa ela é).

Muitos fatores influenciam a atividade de uma enzima. Entre os mais importantes estão a temperatura, o pH, a concentração do substrato e a presença ou a ausência de inibidores.

Temperatura

A velocidade da maioria das reações químicas aumenta com o aumento da temperatura. As moléculas movem-se mais lentamente em baixas temperaturas do que em altas temperaturas e então podem não ter energia suficiente para causar uma reação química. Para as reações enzimáticas, contudo, uma elevação acima de certa temperatura (a temperatura ótima) reduz drasticamente a velocidade da reação (Figura 5.5a). A temperatura ótima para a maioria das bactérias que produzem doenças no corpo humano é entre 35 e 40 ºC. A velocidade da reação declina acima da temperatura ótima devido à **desnaturação** enzimática, a perda de sua estrutura tridimensional característica (configuração

(a) Temperatura. A atividade enzimática (velocidade da reação catalisada pela enzima) aumenta com o aumento da temperatura até que a enzima, uma proteína, seja desnaturada pelo calor e inativada. Neste ponto, a velocidade da reação diminui rapidamente.

(b) pH. A enzima ilustrada é mais ativa em pH próximo de 5,0.

(c) Concentração do substrato. Com o aumento na concentração de moléculas do substrato, a velocidade da reação aumenta até que os sítios ativos em todas as moléculas da enzima sejam preenchidos, no ponto em que é alcançada a velocidade máxima da reação.

Figura 5.5 **Fatores que influenciam a atividade enzimática, representados para uma enzima hipotética.**

P Como esta enzima irá agir a 25ºC? A 45ºC? E em pH 7?

terciária) (**Figura 5.6**). A desnaturação de uma proteína envolve a quebra de ligações de hidrogênio e de outras ligações não covalentes; um exemplo comum é a transformação pelo calor da clara de ovo não cozida (uma proteína chamada de albumina) para um estado endurecido.

A desnaturação de uma enzima modifica o arranjo dos aminoácidos no sítio ativo, alterando sua forma e causando a perda da atividade catalítica da enzima. Em alguns casos, a desnaturação é parcial ou totalmente reversível. Contudo, se a desnaturação ocorrer até a enzima perder sua solubilidade e coagular, a enzima não poderá recuperar suas propriedades originais. As enzimas também podem ser desnaturadas por ácidos concentrados, bases, metais pesados (como chumbo, arsênico ou mercúrio), álcool e radiação ultravioleta.

pH

A maioria das enzimas tem um pH ótimo no qual sua atividade é caracteristicamente máxima. Acima ou abaixo desse valor de pH, a atividade enzimática, e portanto a velocidade da reação, diminui (**Figura 5.5b**). Quando a concentração de H^+ (pH) no meio é modificada, a estrutura tridimensional da proteína é alterada. Mudanças extremas no pH podem causar desnaturação. Ácidos e bases alteram a estrutura tridimensional da proteína porque o H^+ (e o OH^-) compete com o hidrogênio e as ligações iônicas em uma enzima, o que resulta na desnaturação enzimática.

Concentração do substrato

Há uma velocidade máxima em que certa quantidade de enzima pode catalisar uma reação específica. É somente quando a concentração do(s) substrato(s) está extremamente alta que essa velocidade máxima pode ser alcançada. Sob condições de alta concentração de substrato, a enzima é dita estar em **saturação**; ou seja, seu sítio ativo permanece sempre ocupado por moléculas de substrato ou produto. Nessa condição, um aumento adicional na concentração do substrato não afetará a velocidade da reação porque todos os sítios ativos já estão ocupados (**Figura 5.5c**). Sob condições celulares normais, as enzimas não estão saturadas com substrato(s). Em um determinado momento, muitas das moléculas de enzima estão inativas por falta de substrato e, portanto, a velocidade da reação poderá ser influenciada pela adição de substrato.

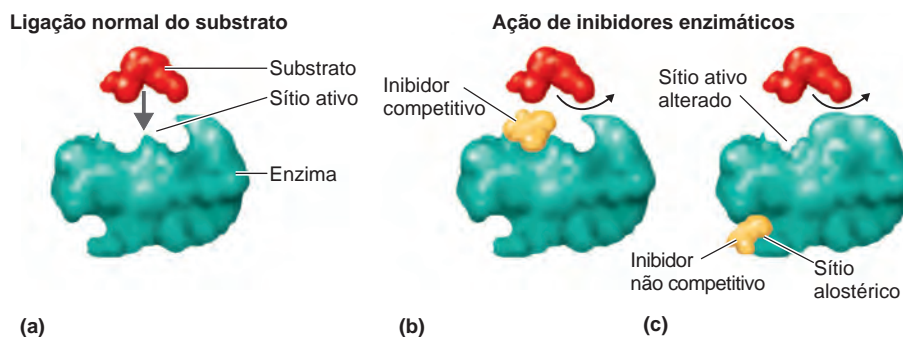
Figura 5.6 **Desnaturação de uma proteína.** A quebra de ligações não covalentes (como ligações de hidrogênio) que mantêm a proteína ativa na sua configuração tridimensional torna a proteína desnaturada não funcional.

P Quais fatores podem causar desnaturação?

Inibidores

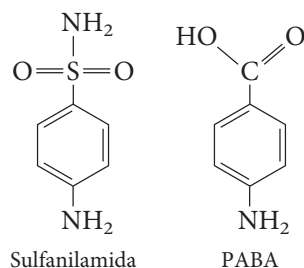
Uma forma efetiva de controlar o crescimento de uma bactéria é controlar suas enzimas. Certos venenos, como o cianeto, o arsênico e o mercúrio, podem se combinar com enzimas e impedem seu funcionamento. Como resultado, as células param de funcionar e morrem.

Figura 5.7 Inibidores enzimáticos. (a) Uma enzima não inibida e seu substrato normal. **(b)** Um inibidor competitivo. **(c)** Um tipo de inibidor não competitivo, causando uma inibição alostérica.

P Como os inibidores competitivos agem?

Os inibidores enzimáticos são classificados como inibidores competitivos ou não competitivos (Figura 5.7). Os **inibidores competitivos** ocupam o sítio ativo de uma enzima e competem com o substrato normal pelo sítio ativo. Um inibidor competitivo pode fazer isso porque sua forma e estrutura química são similares àquelas do substrato normal (Figura 5.7b). Contudo, ao contrário do substrato, ele não sofre reação para formar produtos. Alguns inibidores competitivos ligam-se irreversivelmente aos aminoácidos do sítio ativo, impedindo interações adicionais com o substrato. Outros ligam-se de forma reversível, alternadamente ocupando e deixando o sítio ativo; isso reduz a interação da enzima com o substrato. Aumentar a concentração do substrato pode superar a inibição competitiva reversível. Como os sítios ativos ficam disponíveis, mais moléculas de substrato que moléculas de inibidores competitivos estão disponíveis para se ligarem aos sítios ativos das enzimas.

Um bom exemplo de inibidor competitivo é a sulfanilamida (uma droga sulfa), que inibe a enzima cujo substrato normal é o ácido *para*-aminobenzoico (PABA):

NH_2 — $O{=}S{=}O$ — (anel benzênico) — NH_2
Sulfanilamida

HO — C(=O) — (anel benzênico) — NH_2
PABA

O PABA é um nutriente essencial utilizado por muitas bactérias na síntese do ácido fólico, uma vitamina que funciona como coenzima. Quando a sulfanilamida é administrada às bactérias, a enzima que normalmente converte PABA em ácido fólico se combina com a sulfanilamida. O ácido fólico não é sintetizado, e as bactérias não podem crescer. Como as células humanas não utilizam PABA para produzir seu ácido fólico, a sulfanilamida mata as bactérias sem prejudicar as células humanas.

Os **inibidores não competitivos** não competem com o substrato pelo sítio ativo da enzima; em vez disso, eles interagem com outra parte da enzima (Figura 5.7c). Nesse processo, chamado de **inibição alostérica** ("outro espaço"), o inibidor se liga a outro sítio na enzima que não o sítio de ligação ao substrato, chamado de **sítio alostérico**. Essa ligação causa uma modificação da conformação do sítio ativo, tornando-o não funcional. Como resultado, a atividade enzimática é reduzida. Esse efeito pode ser reversível ou irreversível, dependendo se o sítio ativo pode ou não retornar a sua forma original. Em alguns casos, as interações alostéricas podem ativar uma enzima em vez de inibi-la. Outro tipo de inibição não competitiva pode funcionar em enzimas que requerem íons metálicos para sua atividade. Certas substâncias químicas podem ligar ou envolver os íons metálicos ativadores e, portanto, impedir a reação enzimática. O cianeto pode ligar o ferro nas enzimas contendo ferro, e o fluoreto pode ligar o cálcio ou o magnésio. Substâncias como o cianeto e o fluoreto algumas vezes são chamadas de *venenos enzimáticos* porque inativam as enzimas de maneira permanente.

Inibição por retroalimentação

Os inibidores alostéricos têm um papel em um tipo de controle bioquímico chamado de **inibição por retroalimentação**, ou **inibição do produto final**. Esse mecanismo de controle impede a célula de gastar recursos químicos na produção de mais substância do que o necessário. Em algumas reações metabólicas, várias etapas são requeridas para a síntese de um composto químico específico, chamado de *produto final*. Esse processo é similar a uma linha de montagem, com cada passo catalisado por uma enzima separada (Figura 5.8). Em muitas vias anabólicas, o produto final pode inibir alostericamente a atividade de uma das enzimas iniciais da via. Esse fenômeno é a inibição por retroalimentação.

A inibição por retroalimentação geralmente atua na primeira enzima de uma via metabólica (semelhante a paralisar as operações em uma linha de montagem impedindo o trabalho do primeiro operário da linha). Como a enzima é inibida, o produto da primeira reação enzimática na via não é sintetizado. Já que esse produto não sintetizado seria normalmente o substrato da segunda reação na via, essa reação também para imediatamente. Então, mesmo que somente a primeira reação seja inibida, a via inteira para de funcionar, e nenhum produto final é formado. Inibindo a primeira enzima na via, a célula também deixa de acumular intermediários

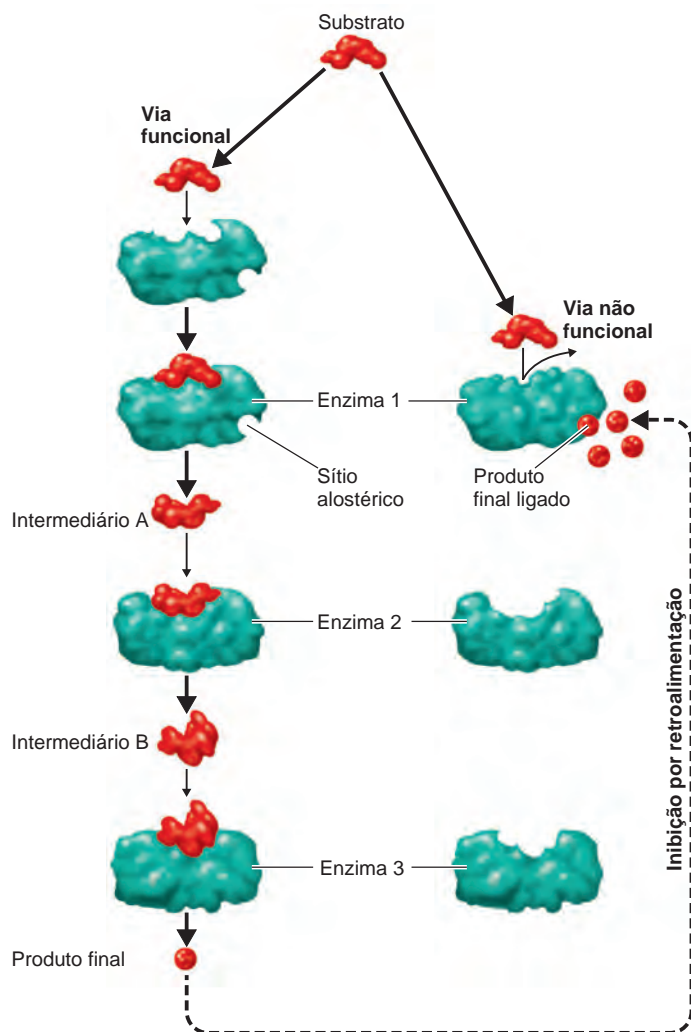



Figura 5.8 **Inibição por retroalimentação.**

P **O que significa *inibição por retroalimentação*?**

metabólicos. Como a célula consome o produto final existente, o sítio alostérico da primeira enzima irá permanecer desligado com mais frequência, e a via retomará a sua atividade.

A bactéria *E. coli* pode ser usada para demonstrar a inibição por retroalimentação na síntese do aminoácido isoleucina, que é requerido para o crescimento da célula. Nessa via metabólica, o aminoácido treonina é convertido enzimaticamente em isoleucina em cinco passos. Se a isoleucina é adicionada ao meio de crescimento para *E. coli*, ela inibe a primeira enzima da via, e as bactérias param de sintetizar isoleucina. Essa condição é mantida até que o fornecimento de isoleucina seja esgotado. Esse tipo de inibição por retroalimentação também está envolvido na regulação da produção celular de outros aminoácidos, assim como de vitaminas, purinas e pirimidinas.

Ribozimas

Antes de 1982, acreditava-se que somente as moléculas de proteínas tinham atividade enzimática. Pesquisadores trabalhando com micro-organismos descobriram um tipo peculiar de RNA chamado de **ribozima**. Como as enzimas proteicas, as ribozimas funcionam como catalisadores, têm sítios ativos que se ligam ao substrato e não são consumidas na reação química. As ribozimas atuam especificamente nas fitas de RNA, removendo seções e unindo as peças remanescentes. Nesse caso, as ribozimas são mais restritas que as enzimas proteicas em termos de diversidade de substratos com os quais elas interagem.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é uma coenzima? **5-3**
- ✓ Por que a especificidade enzimática é importante? **5-4**
- ✓ O que ocorre a uma enzima abaixo da sua temperatura ótima? E acima da temperatura ótima? **5-5**
- ✓ Por que a inibição por retroalimentação é uma inibição não competitiva? **5-6**
- ✓ O que é uma ribozima? **5-7**

Produção de energia

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

5-8 Explicar o termo oxidação-redução.

5-9 Listar e dar exemplos de três tipos de reações de fosforilação que geram ATP.

5-10 Explicar a função geral das vias metabólicas.

As moléculas de nutrientes, como todas as moléculas, têm energia associada com os elétrons que formam as ligações entre seus átomos. Quando distribuída por toda a molécula, essa energia é difícil de ser utilizada pela célula. Contudo, várias reações nas vias catabólicas concentram a energia dentro das ligações do ATP, que serve como um transportador conveniente de energia. O ATP geralmente é referido como tendo ligações de "alta energia". Na verdade, um termo mais apropriado provavelmente seja *ligações instáveis*. Embora a quantidade de energia nessas ligações não seja muito elevada, ela pode ser liberada de modo rápido e fácil. Em um certo sentido, o ATP é similar a um líquido altamente inflamável como querosene. Embora uma grande tora de madeira possa eventualmente queimar para produzir mais calor que um copo de querosene, a ignição do querosene é mais fácil e fornece calor mais rápido e com maior facilidade. De forma similar, as ligações instáveis de "alta energia" do ATP suprem a célula com uma energia prontamente disponível para reações anabólicas.

Antes de discutir as vias catabólicas, consideraremos dois aspectos gerais da produção de energia: o conceito de oxidação-redução e os mecanismos de geração do ATP.

Reações de oxidação-redução

A **oxidação** é a remoção de elétrons (e^-) de um átomo ou molécula, uma reação que muitas vezes produz energia. A **Figura 5.9** mos-

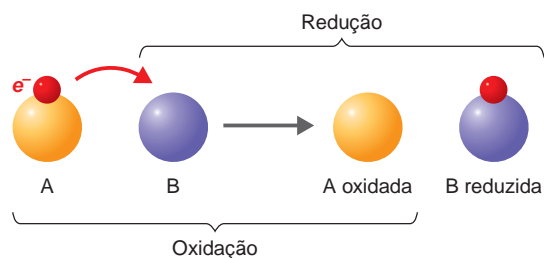



Figura 5.9 **Oxidação-redução.** Um elétron é transferido da molécula A para a molécula B. No processo, a molécula A é oxidada e a molécula B é reduzida.

P **Em que oxidação e redução diferem?**

tra um exemplo de uma oxidação na qual a molécula A perde um elétron para a molécula B. A molécula A sofreu oxidação (significando que perdeu um ou mais elétrons), enquanto a molécula B sofreu **redução** (significando que ganhou um ou mais elétrons).* As reações de oxidação e redução estão sempre acopladas; em outras palavras, cada vez que uma substância é oxidada, outra é simultaneamente reduzida. O pareamento dessas reações é chamado de **oxidação-redução**, ou **reação redox**.

Em muitas oxidações celulares, elétrons e prótons (íons hidrogênio, H^+) são removidos ao mesmo tempo; isso é equivalente à remoção de átomos de hidrogênio, pois um átomo de hidrogênio é composto de um próton e um elétron (veja a Tabela 2.2, página 29). Como a maioria das oxidações biológicas envolve a perda de átomos de hidrogênio, elas também são chamadas de reações de **desidrogenação**. A **Figura 5.10** mostra um exemplo de oxidação biológica. Uma molécula orgânica é oxidada pela perda de dois átomos de hidrogênio, e uma molécula de NAD^+ é reduzida. Relembre de nossa discussão anterior sobre coenzimas que a NAD^+ auxilia as enzimas pela absorção de átomos de hidrogênio removidos de um substrato, nesse caso a molécula orgânica. Como mostrado na Figura 5.10, a NAD^+ absorve dois elétrons e um próton. Um próton (H^+) sobra e é liberado no meio circundante. A coenzima reduzida, NADH, contém mais energia que NAD^+. Essa energia pode ser utilizada para gerar ATP em reações posteriores.

Um importante ponto para recordar sobre as reações de oxidação-redução é que as células as utilizam no catabolismo para extrair energia das moléculas de nutrientes. As células capturam nutrientes, alguns dos quais servem como fontes de energia, e os degradam de compostos altamente reduzidos (com muitos átomos de hidrogênio) a compostos altamente oxidados. Por exemplo, quando a célula oxida uma molécula de glicose ($C_6H_{12}O_6$) a CO_2 e H_2O, a energia na molécula de glicose é removida por etapas, sendo no final captada no ATP, que pode então servir como fonte de energia para reações que requerem energia. Compostos como a glicose, que tem muitos átomos de hidrogênio, são compostos altamente reduzidos, contendo uma grande quantidade de energia potencial. Portanto, a glicose é um nutriente valioso para os organismos.

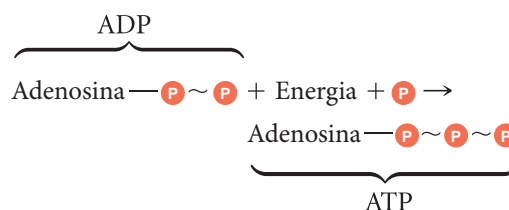
* Os termos não parecem lógicos até que se considere a história da descoberta destas reações. Quando o mercúrio é aquecido a temperaturas elevadas, ele ganha peso à medida que o óxido mercúrico é formado; isso era chamado de *oxidação*. Mais tarde foi determinado que o mercúrio, na realidade, estava *perdendo* elétrons, e o *ganho* de oxigênio observado era resultado direto disso. A oxidação é, portanto, uma *perda* de elétrons, e a redução é um *ganho* de elétrons, mas o ganho e a perda normalmente não são aparentes quando as equações das reações químicas são escritas. Por exemplo, nas equações para a respiração aeróbica da página 132, observe que cada carbono na glicose possui originalmente somente um oxigênio e, depois, como dióxido de carbono, cada carbono possui dois oxigênios. Contudo, o ganho ou a perda de elétrons realmente responsável por isso não é aparente.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a glicose é uma molécula tão importante para os organismos? **5-8**

A geração de ATP

Grande parte da energia liberada durante reações de oxidação-redução é armazenada dentro da célula pela formação de ATP. Especificamente, um grupo fosfato Ⓟ é adicionado ao ADP com uma entrada de energia para formar ATP:

$$\underbrace{\text{Adenosina}-Ⓟ\sim Ⓟ}_{\text{ADP}} + \text{Energia} + Ⓟ \rightarrow \underbrace{\text{Adenosina}-Ⓟ\sim Ⓟ\sim Ⓟ}_{\text{ATP}}$$

O símbolo ~ designa uma ligação de "alta energia", ou seja, que pode ser prontamente quebrada para liberar uma energia utilizável. A ligação de alta energia que fixa o terceiro Ⓟ contém a energia armazenada nessa reação. Quando esse Ⓟ é removido, a energia utilizável é liberada. A adição de Ⓟ a um composto químico é chamada de **fosforilação**. Os organismos utilizam três mecanismos de fosforilação para gerar ATP a partir de ADP.

Fosforilação em nível de substrato

Na **fosforilação em nível de substrato**, ATP normalmente é gerado quando um Ⓟ de alta energia é diretamente transferido de um composto fosforilado (um substrato) a HDP. Geralmente, o Ⓟ adquiriu sua energia durante uma reação inicial em que o próprio substrato foi oxidado. O exemplo seguinte mostra somente o esqueleto de carbono e o Ⓟ de um substrato típico:

$$C–C–C\sim Ⓟ + ADP \rightarrow C–C–C + ATP$$

Fosforilação oxidativa

Na **fosforilação oxidativa**, os elétrons são transferidos de compostos orgânicos para um grupo de carreadores de elétrons (normalmente NAD^+ e FAD). Os elétrons são então transferidos ao longo de uma série de carreadores diferentes a moléculas de oxigênio (O_2) ou outras moléculas inorgânicas ou orgânicas oxidadas. Esse processo ocorre na membrana plasmática dos procariotos e na mem-

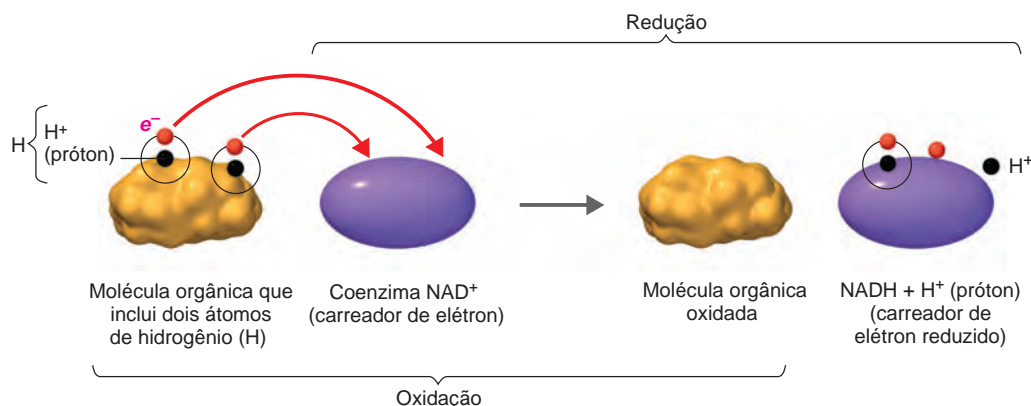



Figura 5.10 Oxidação biológica representativa. Dois elétrons e dois prótons (juntos equivalem a dois átomos de hidrogênio) são transferidos de uma molécula de substrato orgânico para uma coenzima, NAD^+. NAD^+, na realidade, recebe um átomo de hidrogênio e um elétron, e um elétron e um próton são liberados no meio. NAD^+ é reduzida a NADH, que é uma molécula mais rica em energia.

P Como os organismos usam as reações de oxidação-redução?

brana mitocondrial interna dos eucariotos. A sequência de carreadores de elétrons utilizada na fosforilação oxidativa é chamada de **cadeia de transporte de elétrons** (**sistema**) (veja a Figura 5.14, página 129). A transferência de elétrons de um carreador de elétrons para o próximo libera energia, sendo uma parte dela utilizada para gerar ATP a partir de ADP em um processo chamado de *quimiosmose*, que será descrito na página 130.

Fotofosforilação

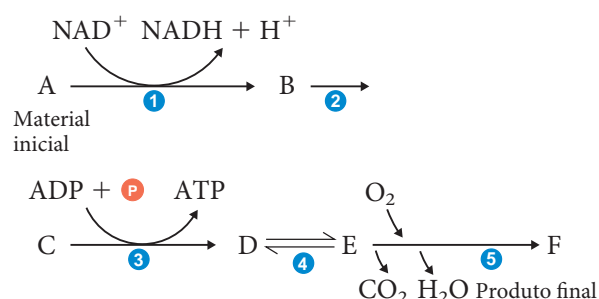
O terceiro mecanismo de fosforilação, a **fotofosforilação**, ocorre somente nas células fotossintéticas, que contêm pigmentos que absorvem a luz, como a clorofila. Na fotossíntese, moléculas orgânicas, especialmente açúcares, são sintetizadas com a energia da luz a partir de dióxido de carbono e água, que são blocos construtivos de baixa energia. A fotofosforilação inicia esse processo pela conversão da energia luminosa em energia química de ATP e NADPH, que, por sua vez, são utilizados para sintetizar moléculas orgânicas. Como na fosforilação oxidativa, uma cadeia de transporte de elétrons está envolvida.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Cite as três maneiras pelas quais o ATP é gerado. **5-9**

Vias metabólicas de produção de energia

Os organismos liberam e armazenam energia a partir de moléculas orgânicas por uma série de reações controladas, em vez de uma única explosão. Se a energia fosse liberada toda de uma vez, como uma grande quantidade de calor, ela não poderia ser utilizada prontamente para impulsionar as reações químicas e, na verdade, danificaria a célula. Para extrair energia dos compostos orgânicos e armazená-la em uma forma química, os organismos passam os elétrons de um composto para outro por meio de uma série de reações de oxidação-redução.

Como observado anteriormente, a sequência de reações químicas catalisadas por enzimas ocorrendo em uma célula é chamada de via metabólica. A seguir é apresentada uma via metabólica hipotética que converte o material inicial A no produto final F em uma série de cinco passos:

O primeiro passo é a conversão da molécula A na molécula B. A seta curva indica que a redução da coenzima NAD^+ a NADH está acoplada à reação; os elétrons e os prótons vêm da molécula A. De maneira similar, as duas setas em 3 mostram o acoplamento de duas reações. Enquanto C é convertido em D, ADP é convertido em ATP; a energia requerida vem de C, quando é convertido em D. A reação convertendo D em E é facilmente reversível, como indicado pela seta dupla. Em um quinto passo, a seta curva que parte do O_2 indica que o O_2 é o reagente na reação. A seta curva que parte de CO_2 e H_2O indica que essas substâncias são os produtos secundários produzidos nessa reação, em adição a F, o produto final que (provavelmente) mais nos interessa. Os produtos secundários como CO_2 e H_2O mostrados aqui algumas vezes são chamados de *subprodutos* ou *resíduos*. Tenha em mente que quase todas as reações em uma via metabólica são catalisadas por uma enzima específica; algumas vezes o nome da enzima está escrito perto da seta.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a finalidade das vias metabólicas? **5-10**

Catabolismo de carboidratos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

5-11 Descrever as reações químicas da glicólise.

5-12 Identificar as funções das vias da pentose-fosfato e de Entner-Doudoroff.

5-13 Explicar os produtos do ciclo de Krebs.

5-14 Descrever o modelo quimiosmótico para a geração de ATP.

5-15 Comparar e diferenciar a respiração aeróbica e anaeróbica.

5-16 Descrever as reações químicas da fermentação e citar alguns dos seus produtos.

A maioria dos micro-organismos oxida carboidratos como sua fonte primária de energia celular. O **catabolismo de carboidratos**, a quebra das moléculas de carboidrato para produzir energia, é portanto de grande importância para o metabolismo celular. A glicose é o carboidrato fornecedor de energia mais comum utilizado pelas células. Os micro-organismos também podem catabolisar vários lipídeos e proteínas para produção de energia (página 136).

Para produzir energia a partir de glicose, os micro-organismos utilizam dois processos gerais: a *respiração celular* e a *fermentação*. (Ao discutir respiração celular, frequentemente referiremos o processo como respiração, mas isso não deve ser confundido com respiração pulmonar.) Tanto a respiração celular quanto a fermentação geralmente iniciam com o mesmo primeiro passo, a glicólise, mas seguem vias posteriores diferentes (**Figura 5.11**). Antes de examinar os detalhes da glicólise, da respiração e da fermentação, primeiro veremos um resumo dos processos.

Com mostrado na Figura 5.11, a respiração da glicose tipicamente ocorre em três passos principais: a glicólise, o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons (sistema).

❶ A glicólise é a oxidação da glicose em ácido pirúvico com a produção de algum ATP e NADH contendo energia.

❷ O ciclo de Krebs é a oxidação da acetil-CoA (um derivado do ácido pirúvico) em dióxido de carbono, com produção de algum ATP, NADH contendo energia e um outro carreador de elétron reduzido, a $FADH_2$ (a forma reduzida da flavina adenina dinucleotídeo).

❸ Na cadeia de transporte de elétrons (sistema), NADH e $FADH_2$ são oxidados, entregando os elétrons que transportam dos substratos para uma "cascata" de reações de oxidação-redução envolvendo uma série de carreadores adicionais de elétrons. A energia dessas reações é utilizada para gerar uma quantidade considerável de ATP. Na respiração, a maioria do ATP é gerada por esse terceiro passo.

Devido ao fato de a respiração envolver uma longa série de reações de oxidação-redução, o processo inteiro pode ser considerado como envolvendo um fluxo de elétrons da molécula de glicose de alta energia para as moléculas de CO_2 e H_2O de relativamente baixa energia. O acoplamento da produção de ATP a esse fluxo é um pouco parecido com a produção de força elétrica pelo uso da energia transmitida por uma corredeira. Mantendo a analogia, podemos imaginar a glicólise e o ciclo de Krebs como um córrego fluindo em um declive suave, fornecendo energia para girar duas rodas hidráulicas antigas. Na cadeia de transporte de elétrons, uma torrente descendo um declive forte forneceria energia para uma usina hidroelétrica moderna. Da mesma forma, a glicólise e o ciclo de Krebs geram pequenas quantidades de ATP, mas também fornecem os elétrons que vão gerar uma grande quantia de ATP no estágio da cadeia de transporte de elétrons.

Tipicamente, o passo inicial da fermentação também é a glicólise (Figura 5.11). Contudo, uma vez que a glicólise ocorra, o ácido pirúvico é convertido em um ou mais produtos, dependendo do tipo de célula. Esses produtos podem incluir o álcool (etanol) e o ácido lático. Diferente da respiração, não há ciclo de Krebs ou cadeia de transporte de elétrons na fermentação. Consequentemente, o rendimento de ATP, que advém somente da glicólise, é bem mais baixo.

Glicólise

A **glicólise**, a oxidação da glicose em ácido pirúvico, normalmente é o primeiro passo no catabolismo de carboidratos. A maioria dos micro-organismos utiliza essa via, sendo, portanto, presente na maior parte das células vivas.

A glicólise também é chamada de via de *Embden-Meyerhoff*. A palavra *glicólise* significa quebra do açúcar, e isto é exatamente o que acontece. As enzimas da glicólise catalisam a quebra da glicose, um açúcar de seis carbonos, em dois açúcares de três carbonos. Esses açúcares são então oxidados, liberando energia, e seus átomos sofrem um rearranjo para formar duas moléculas de ácido pirúvico. Durante a glicólise, NAD^+ é reduzida a NADH, e há uma produção conjunta de dois ATPs por fosforilação em nível de substrato. A glicólise não requer oxigênio; ela pode ocorrer com oxigênio presente ou não. Essa via é uma série de dez reações químicas, cada uma catalisada por uma enzima diferente. Os passos são resumidos na **Figura 5.12**; veja também a Figura A.2 no Apêndice A para uma representação mais detalhada da glicólise.

Para resumir o processo, a glicólise consiste em dois passos básicos – um passo preparatório e um passo de recuperação de energia:

1. Primeiro, no passo preparatório (etapas ❶-❹ na Figura 5.12), duas moléculas de ATP são utilizadas enquanto uma molécula de glicose de seis carbonos é fosforilada, reestruturada e quebrada em dois compostos de três carbonos: gliceraldeido-3--fosfato (GP) e diidroxiacetona-fosfato (DHAP). ❺ DHAP é rapidamente convertida em GP. (A reação inversa também pode ocorrer.) A conversão de DHAP em GP significa que, nesse ponto da glicólise, duas moléculas de GP são supridas para as reações restantes.
2. No passo de recuperação de energia (etapas ❻-❿ na Figura 5.12), as duas moléculas de três carbonos são oxidadas, em vários passos, em duas moléculas de ácido pirúvico. Nessas reações, duas moléculas de NAD^+ são reduzidas a NADH, e quatro moléculas de ATP são formadas por fosforilação em nível de substrato.

Como duas moléculas de ATP foram necessárias para iniciar a glicólise e quatro moléculas de ATP são geradas pelo processo, *há um ganho líquido de duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose que é oxidada*.

Figura 5.11

FIGURA FUNDAMENTAL Visão geral da respiração e da fermentação

Uma versão menor desta figura será incluída em outras figuras ao longo do capítulo para indicar as relações das diferentes reações com os processos gerais da respiração e da fermentação.

Alternativas à glicólise

Muitas bactérias têm outra via além da glicólise para oxidação da glicose. A alternativa mais comum é a via da pentose-fosfato; outra alternativa é a via de Entner-Doudoroff.

A via da pentose-fosfato

A **via da pentose-fosfato** (ou *ciclo da hexose-monofosfato*) funciona simultaneamente com a glicólise e fornece um meio para a quebra de açúcares de cinco carbonos (pentoses), assim como a glicose. (Veja a Figura A.3 no Apêndice A para uma representa-

Figura 5.12 Um esboço das reações da glicólise (via de Embden-Meyerhof). O diagrama no detalhe indica a relação da glicólise com os processos gerais de respiração e fermentação. Uma versão mais detalhada da glicólise é apresentada na Figura A.2 no Apêndice A.

P O que é glicólise?

ção mais detalhada da via da pentose-fosfato.) Uma característica importante dessa via é que ela produz pentoses intermediárias essenciais utilizadas na síntese de (1) ácidos nucleicos, (2) glicose a partir de dióxido de carbono na fotossíntese e (3) certos aminoácidos. A via é uma importante produtora da coenzima reduzida NADPH a partir de $NADP^+$. A via da pentose-fosfato produz um ganho de somente uma molécula de ATP para cada molécula de glicose oxidada. As bactérias que utilizam a via da pentose-fosfato incluem *Bacillus subtilis, E. coli, Leuconostoc mesenteroides* e *Enterococcus faecalis.*

A via de Entner-Doudoroff

De cada molécula de glicose, a **via de Entner-Doudoroff** produz duas moléculas de NADPH e uma molécula de ATP para utilizar nas reações de biossíntese celular (veja a Figura A.4 no Apêndice A para uma representação mais detalhada). As bactérias que têm as enzimas para a via de Entner-Doudoroff podem metabolizar a glicose sem a glicólise ou a via da pentose-fosfato. A via de Entner-Doudoroff é encontrada em algumas bactérias gram-negativas, incluindo *Rhizobium, Pseudomonas* e *Agrobacterium*; ela geralmente não é encontrada nas bactérias gram-positivas. Testes para verificar a capacidade de oxidar glicose por essa via algumas vezes são utilizados para identificar *Pseudomonas* no laboratório clínico.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que ocorre durante as etapas preparatória e de recuperação de energia da glicólise? **5-11**
- ✓ Qual é o valor das vias da pentose-fosfato e de Entner-Doudoroff se elas produzem somente uma molécula de ATP? **5-12**

Respiração celular

Após a glicose ter sido quebrada em ácido pirúvico, esse ácido pode ser guiado ao próximo passo da fermentação (página 132) ou da respiração celular (veja a Figura 5.11). A **respiração celular**, ou simplesmente **respiração**, é definida como um processo gerador de ATP no qual moléculas são oxidadas e o aceptor final de elétrons é (quase sempre) uma molécula inorgânica. Uma característica essencial da respiração é a ação de uma cadeia de transporte de elétrons.

Existem dois tipos de respiração, dependendo se um organismo é **aeróbico**, aquele que utiliza oxigênio, ou **anaeróbico**, que não utiliza oxigênio e ainda pode ser morto por ele. Na **respiração aeróbica**, o aceptor final de elétrons é O_2; na **respiração anaeróbica**, o aceptor final de elétrons é uma molécula inorgânica que não o oxigênio ou, raramente, uma molécula orgânica. Primeiro, vamos descrever como a respiração ocorre em uma célula aeróbica.

Respiração aeróbica

O ciclo de Krebs. O **ciclo de Krebs**, também chamado de *ciclo dos ácidos tricarboxílicos* (TCA) ou *ciclo do ácido cítrico*, é uma série de reações bioquímicas na qual uma grande quantidade da energia química potencial armazenada na acetil-CoA é liberada por etapas (veja a Figura 5.11). Nesse ciclo, uma série de oxidações e reduções transfere a energia potencial, na forma de elétrons, para coenzimas carreadoras de elétrons, principalmente NAD^+. Os derivados do ácido pirúvico são oxidados; as coenzimas são reduzidas.

O ácido pirúvico, o produto da glicólise, não pode entrar diretamente no ciclo de Krebs. Em um passo preparatório, ele deve perder uma molécula de CO_2 e se tornar um composto de dois carbonos (**Figura 5.13**, no topo). Esse processo é chamado de **descarboxilação**. O composto de dois carbonos, chamado de *grupo acetil*, liga-se à coenzima A com uma ligação de alta energia; o composto resultante é conhecido como *acetil-coenzima A* (*acetil-CoA*). Durante essa reação, o ácido pirúvico também é oxidado e NAD^+ é reduzida a NADH.

Recorde que a oxidação de uma molécula de glicose produz duas moléculas de ácido pirúvico, então para cada molécula de glicose, duas moléculas de CO_2 são liberadas nesse passo preparatório; duas moléculas de NADH são produzidas, e duas moléculas de acetil-CoA são formadas. Uma vez que o ácido pirúvico tenha sofrido descarboxilação e seu derivado (o grupo acetil) tenha se ligado à CoA, a acetil-CoA resultante está pronta para entrar no ciclo de Krebs.

Assim que a acetil-CoA entra no ciclo de Krebs, a CoA desliga-se do grupo acetil. O grupo acetil de dois carbonos combina-se com um composto de quatro carbonos chamado de ácido oxaloacético para formar o ácido cítrico de seis carbonos. Essa reação de síntese requer energia, que é fornecida pela clivagem da ligação de alta energia entre o grupo acetil e a CoA. A formação do ácido cítrico é, portanto, a primeira etapa do ciclo de Krebs. As principais reações químicas desse ciclo estão resumidas na Figura 5.13; uma representação mais detalhada do ciclo de Krebs é apresentada na Figura A.5 no Apêndice A. Tenha em mente que cada reação é catalisada por uma enzima específica.

As reações químicas do ciclo de Krebs pertencem a diversas categorias gerais; uma delas é a descarboxilação. Por exemplo, no passo 3, o ácido isocítrico, um composto de seis carbonos, é descarboxilado a um composto de cinco carbonos chamado de ácido α-cetoglutárico. Outra descarboxilação ocorre no passo 4. Como ocorreu uma descarboxilação na etapa preparatória e duas no ciclo de Krebs, todos os três carbonos do ácido pirúvico são finalmente liberados como CO_2 no ciclo de Krebs. Isso representa a conversão em CO_2 de todos os seis carbonos da molécula original de glicose.

Outra categoria geral de reações químicas do ciclo de Krebs é oxidação-redução. Por exemplo, na etapa 3, dois átomos de hidrogênio são perdidos durante a conversão do ácido isocítrico de seis carbonos em um composto de cinco carbonos. Em outras palavras, o composto de seis carbonos é oxidado. Átomos de hidrogênio também são liberados nas etapas 4, 6 e 8 do ciclo de Krebs e são recuperados pelas coenzimas NAD^+ e FAD. Como NAD^+ captura dois elétrons, mas somente um próton adicional, sua forma reduzida é representada como NADH. Contudo, a FAD captura dois átomos completos de hidrogênio e é reduzida a $FADH_2$.

Se observarmos o ciclo de Krebs como um todo, veremos que, para cada duas moléculas de acetil-CoA que entram no ciclo, quatro moléculas de CO_2 são liberadas por descarboxilação, seis moléculas de NADH e duas moléculas de $FADH_2$ são produzidas por

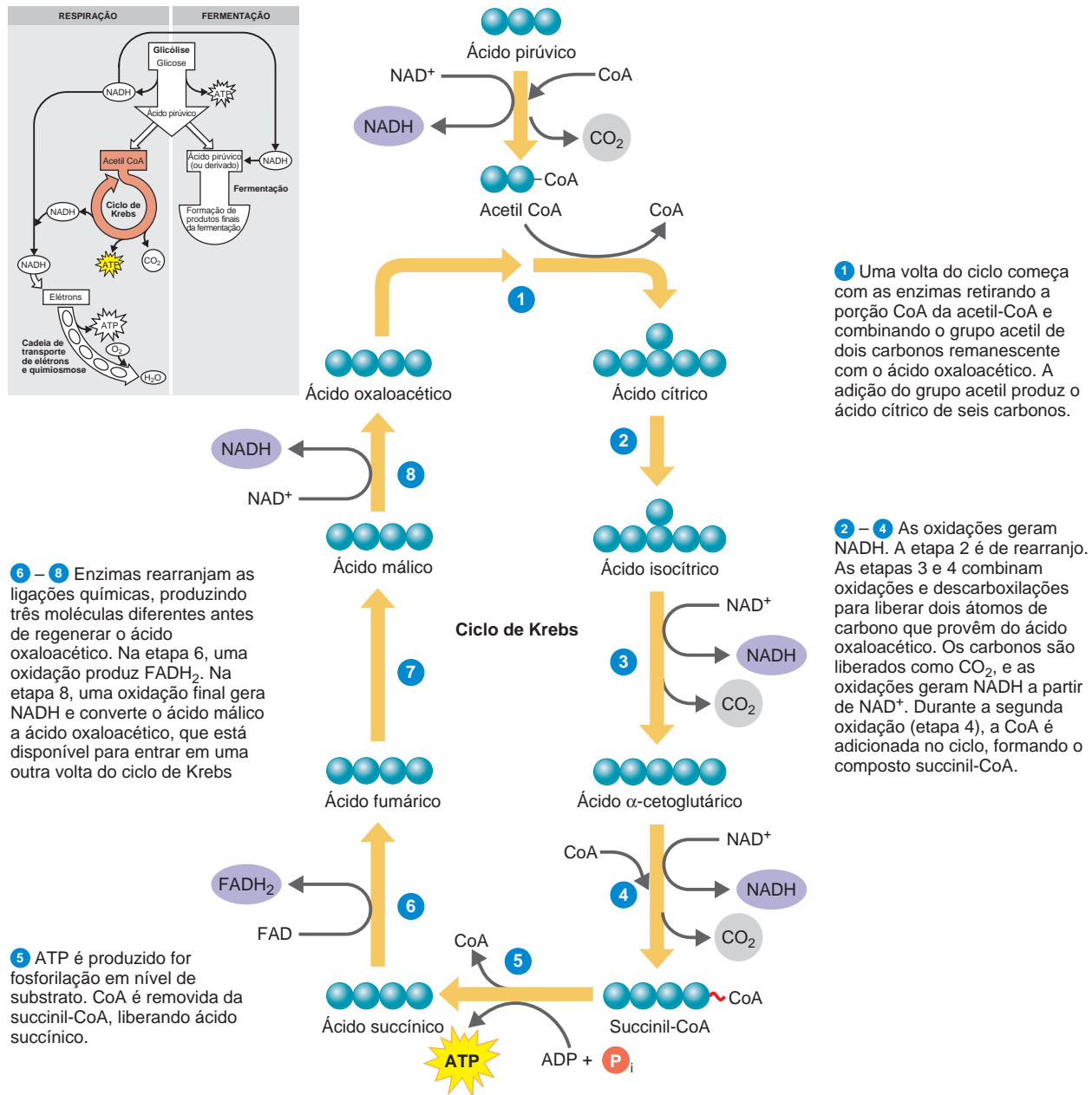



Figura 5.13 **O ciclo de Krebs.** O diagrama no detalhe indica a relação do ciclo de Krebs com o processo geral da respiração. Uma versão mais detalhada do ciclo de Krebs é apresentada na Figura A.5 no Apêndice A.

P **Quais são os produtos do ciclo de Krebs?**

reações de oxidação-redução, e duas moléculas de ATP são geradas por fosforilação em nível de substrato. Muitos dos intermediários no ciclo de Krebs têm uma função em outras vias, principalmente na biossíntese de aminoácidos (página 146).

O CO_2 produzido no ciclo de Krebs é finalmente liberado na atmosfera como um resíduo gasoso da respiração aeróbica. (Os seres humanos produzem CO_2 a partir do ciclo de Krebs na maioria das células do corpo e o liberam pelos pulmões durante a expiração.) As coenzimas reduzidas NADH e $FADH_2$ são os produtos mais importantes do ciclo de Krebs, pois contêm a maior parte da energia originalmente armazenada na glicose. Durante a próxima fase da respiração, uma série de reduções transfere indiretamente a energia armazenada nessas coenzimas para o ATP. Essas reações são coletivamente chamadas de cadeia de transporte de elétrons.

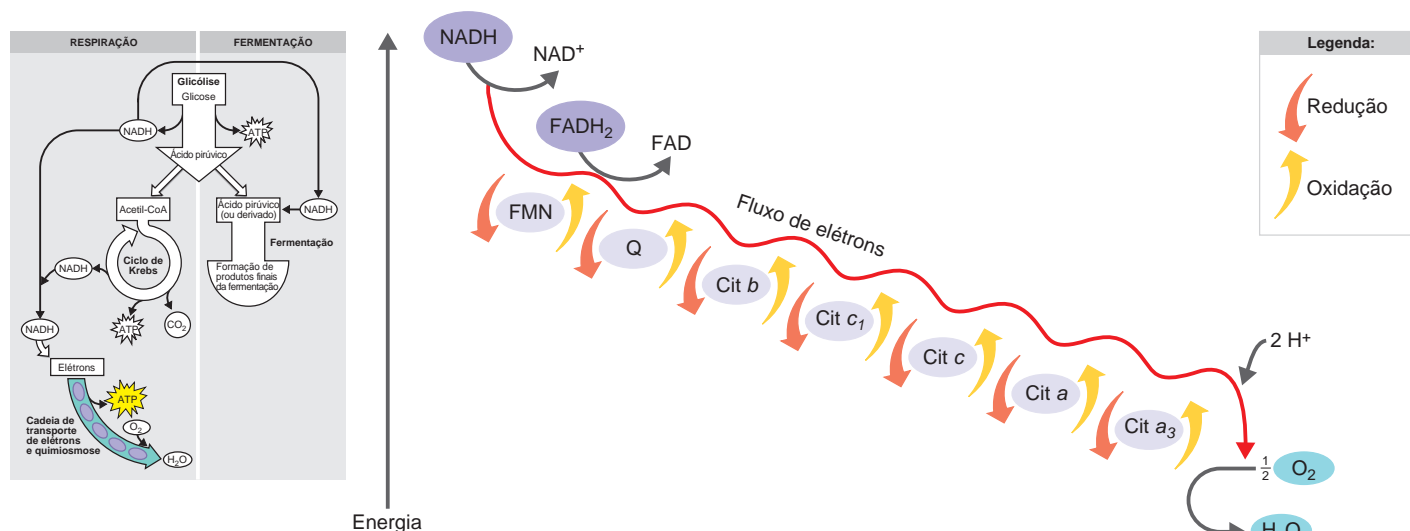



Figura 5.14 **Cadeia de transporte de elétrons (sistema).** O diagrama no detalhe indica a relação da cadeia de transporte de elétrons com o processo geral da respiração. Na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial mostrada, os elétrons passam ao longo da cadeia de uma maneira gradual e por etapa; então, a energia é liberada em quantidades controláveis. Para saber onde o ATP é formado, veja a Figura 5.16.

P **Quais são as funções da cadeia de transporte de elétrons?**

Cadeia de transporte de elétrons (sistema). Uma **cadeia de transporte de elétrons** (**sistema**) consiste em uma sequência de moléculas carreadoras que são capazes de realizar oxidação e redução. Enquanto os elétrons passam ao longo da cadeia, ocorre uma liberação gradual da energia que é utilizada para conduzir a geração quimiosmótica de ATP, que será descrita brevemente. A oxidação final é irreversível. Nas células eucarióticas, a cadeia de transporte de elétrons está contida na membrana interna de mitocôndrias; nas células procarióticas, ela é encontrada na membrana plasmática.

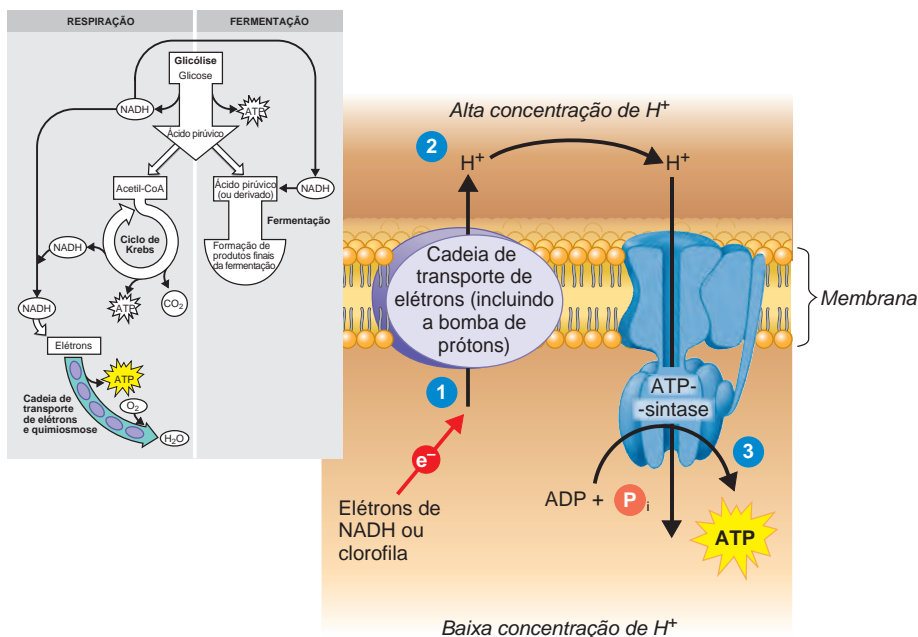
Há três classes de moléculas carreadoras nas cadeias de transporte de elétrons. A primeira classe é composta pelas **flavoproteínas**. Essas proteínas contêm flavina, uma coenzima derivada da riboflavina (vitamina B_2) e são capazes de realizar alternadamente oxidações e reduções. Uma importante coenzima flavina é a flavina mononucleotídeo (FMN). A segunda classe de moléculas carreadoras é composta pelos **citocromos**, proteínas com um grupo contendo ferro (heme) capaz de existir alternadamente como uma forma reduzida (Fe^{2+}) e uma forma oxidada (Fe^{3+}). Os citocromos envolvidos nas cadeias de transporte de elétrons incluem citocromo *b* (cit *b*), citocromo c^1 (cit c^1), citocromo *c* (cit *c*), citocromo *a* (cit *a*) e citocromo a^3 (cit a^3). A terceira classe é conhecida como **ubiquinonas**, ou **coenzima Q**, simbolizada como Q; essas são pequenas carreadoras não proteicas.

As cadeias de transporte de elétrons de bactérias são um tanto diversas, no sentido que carreadores específicos utilizados por uma bactéria e a ordem em que eles funcionam podem ser diferentes daqueles de outras bactérias e daqueles dos sistemas mitocondriais eucarióticos. Mesmo uma única bactéria pode ter vários tipos de cadeias de transporte de elétrons. Contudo, tenha em mente que todas as cadeias de transporte de elétrons atingem o mesmo objetivo básico, que é liberar energia quando elétrons são transferidos de um composto de alta energia para um composto de baixa energia. Muito se conhece sobre a cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria de células eucarióticas, então esta é a cadeia que descreveremos.

A primeira etapa na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial envolve a transferência de elétrons de alta energia de NADH para FMN, o primeiro carreador na cadeia (**Figura 5.14**). Essa transferência na realidade envolve a passagem de um átomo de hidrogênio com dois elétrons para FMN, que então captura um H^+ adicional do meio aquoso circundante. Como resultado da primeira transferência, a NADH é oxidada a NAD^+, e a FMN é reduzida a $FMNH_2$. No segundo passo, na cadeia de transporte de elétrons, $FMNH_2$ passa $2H^+$ para o outro lado da membrana mitocondrial (veja a Figura 5.16) e transfere dois elétrons para Q. Como resultado, $FMNH_2$ é oxidada a FMN. Q também captura $2H^+$ adicionais do meio aquoso circundante e os libera do outro lado da membrana.

A próxima etapa da cadeia de transporte de elétrons envolve os citocromos. Os elétrons são transferidos sucessivamente de Q para cit *b*, cit c_1, cit *c*, cit *a* e cit a_3. Cada citocromo na cadeia é reduzido quando captura elétrons e é oxidado ao doar elétrons. O último citocromo, cit a_3 passa seus elétrons para o oxigênio molecular (O_2), que se torna carregado negativamente e então captura prótons do meio circundante para formar H_2O.

Figura 5.15 Quimiosmose. Visão geral do mecanismo da quimiosmose. A membrana mostrada pode ser uma membrana plasmática procariótica, uma membrana mitocondrial eucariótica ou uma tilacoide fotossintética. Os passos numerados são descritos no texto.

P O que é a força próton motiva?

Observe que a Figura 5.14 mostra $FADH_2$, que é derivada do ciclo de Krebs, como outra fonte de elétrons. Contudo, $FADH_2$ adiciona seus elétrons à cadeia de transporte de elétrons a um nível mais baixo que NADH. Por isso, a cadeia produz em torno de um terço a menos de energia para a geração de ATP quando $FADH_2$ doa elétrons do que quando NADH é o doador.

Uma característica importante da cadeia de transporte de elétrons é a presença de alguns carreadores, como FMN e Q, que recebem e liberem prótons e elétrons, e outros carreadores, como os citocromos, que transferem somente elétrons. O fluxo de elétrons na cadeia é acompanhado em vários pontos pelo transporte ativo (bombeamento) de prótons do lado da matriz da membrana mitocondrial interna para o lado oposto da membrana. O resultado é um acúmulo de prótons de um lado da membrana. Assim como a água de uma represa armazena energia que pode ser utilizada para gerar eletricidade, esse acúmulo de prótons fornece a energia para a geração de ATP pelo mecanismo quimiosmótico.

O mecanismo quimiosmótico de geração de ATP. O mecanismo de síntese de ATP utilizando a cadeia de transporte de elétrons é chamado de **quimiosmose**. Para entender a quimiosmose, precisamos relembrar vários conceitos que foram apresentados no Capítulo 4 como parte da seção sobre o movimento de materiais através das membranas (página 91). Recorde-se de que as substâncias difundem passivamente através da membrana de áreas de alta concentração para áreas de baixa concentração; essa difusão produz energia. Recorde-se também de que o movimento de substâncias *contra* tal gradiente de concentração *requer* energia, e que, no transporte ativo de moléculas ou de íons através de membranas biológicas, a energia requerida normalmente é fornecida pelo ATP. Na quimiosmose, a energia liberada quando uma substância se move ao longo de um gradiente é utilizada para *sintetizar* ATP. A "substância" nesse caso se refere aos prótons. Na respiração, a quimiosmose é responsável pela maior parte do ATP que é gerada. Os passos da quimiosmose são os seguintes (**Figura 5.15** e **Figura 5.16**):

1. Quando os elétrons energéticos da NADH (ou da clorofila) percorrem a cadeia de transporte de elétrons, alguns dos carreadores bombeiam – transportam ativamente – prótons através da membrana. Tais moléculas transportadoras são chamadas de *bombas de prótons*.
2. A membrana fosfolipídica normalmente é impermeável aos prótons, então esse bombeamento unidirecional estabelece um gradiente de prótons (uma diferença nas concentrações entre os dois lados da membrana). Além do gradiente de concentração, há um gradiente de carga elétrica. O excesso de H^+ em um lado da membrana torna este lado carregado positivamente quando comparado com o outro lado. O gradiente eletroquímico resultante tem uma energia potencial, chamada de *força próton motiva*.
3. Os prótons no lado da membrana com a maior concentração de prótons pode difundir através da membrana somente por meio de canais de proteínas especiais que contêm uma enzima chamada de ATP-sintase. Quando este fluxo ocorre, energia é liberada e utilizada pela enzima para sintetizar ATP a partir de ADP e P_i.

A Figura 5.16 mostra em detalhes como a cadeia de transporte de elétrons em eucariotos funciona para conduzir o mecanismo de quimiosmose. 1 Os elétrons energéticos da NADH passam pelas cadeias de transporte de elétrons. No interior da membrana mitocondrial interna, os carreadores da cadeia estão organizados em três complexos, com Q transportando os elétrons entre o primeiro e o segundo complexo, e cit *c* os transportando entre

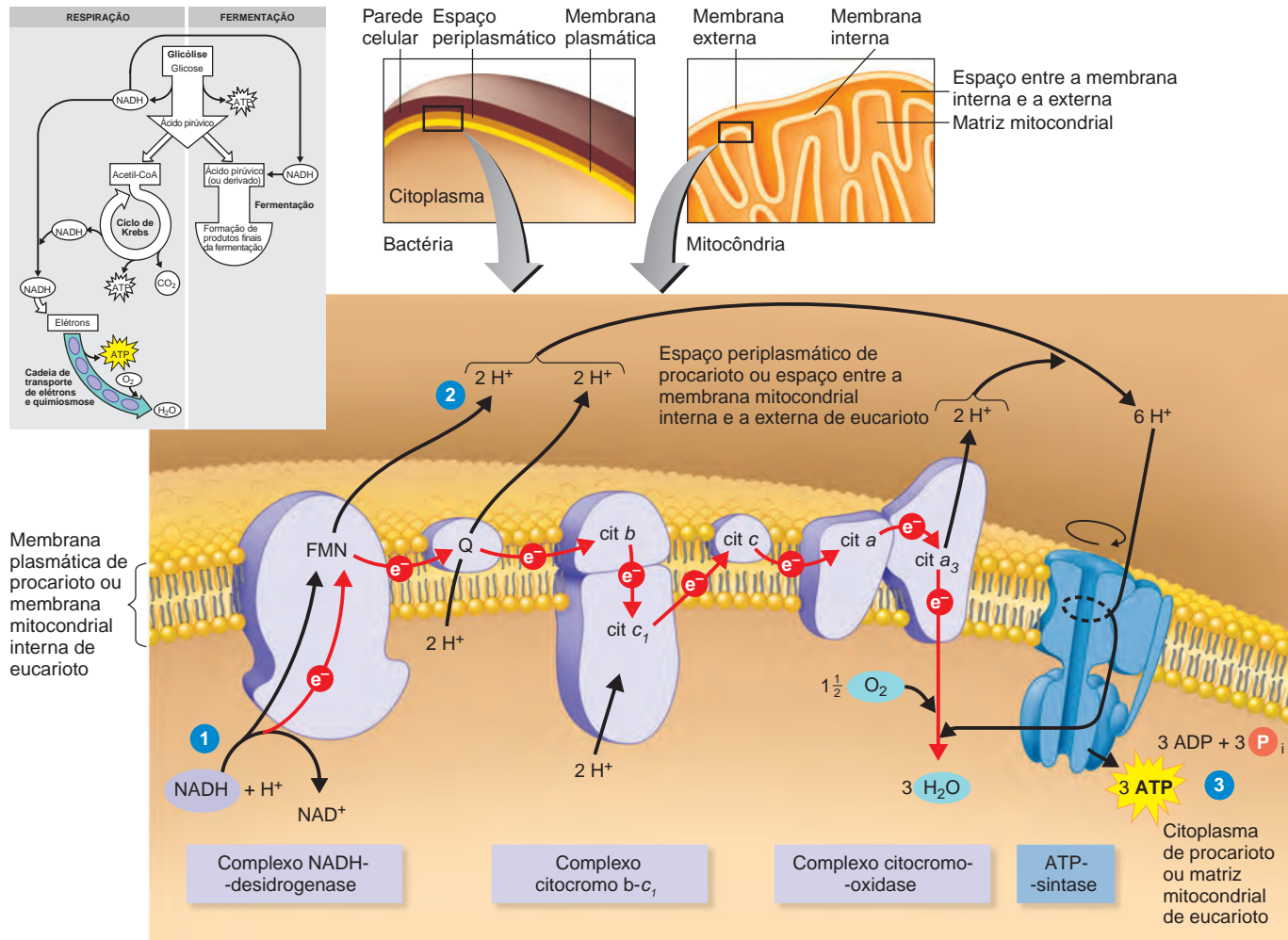



Figura 5.16 **Transporte de elétrons e a geração quimiosmótica de ATP.** Os carreadores de elétrons são organizados em três complexos, e os prótons (H^+) são bombeados através da membrana em três pontos. Na célula procariótica, os prótons são bombeados através da membrana plasmática a partir do lado citoplasmático. Na célula eucariótica, eles são bombeados a partir do lado da matriz da membrana mitocondrial para o lado oposto. O fluxo de elétrons é indicado com setas vermelhas.

P **Onde ocorre a quimiosmose em eucariotos? Em procariotos?**

o segundo e o terceiro complexo. ❷ Três componentes do sistema bombeiam prótons: o primeiro e o terceiro complexo e Q. No final da cadeia, os elétrons se unem a prótons e oxigênio (O_2) na matriz fluida para formar água (H_2O). Então, O_2 é o aceptor final de elétrons.

Tanto as células procarióticas quanto as eucarióticas utilizam o mecanismo de quimiosmose para gerar energia para a produção de ATP. Contudo, nas células eucarióticas, ❸ a membrana mitocondrial interna contém os carreadores do transporte de elétrons e a ATP-sintase, enquanto na maioria dos procariotos eles estão contidos na membrana plasmática. Uma cadeia de transporte de elétrons também funciona na fotofosforilação e está localizada na membrana tilacoide cianobactérias e cloroplastos eucarióticos.

Um resumo da respiração aeróbica. A cadeia de transporte de elétrons regenera NAD^+ e FAD^+, que podem assim ser utilizadas de novo na glicólise e no ciclo de Krebs. As várias transferências de elétrons na cadeia de transporte geram em torno de 34 moléculas de ATP a partir de cada molécula de glicose oxidada: aproximadamente três de cada uma das dez moléculas de NADH (um total de 30) e cerca de duas de cada uma das duas moléculas de $FADH_2$ (um total de quatro). Para alcançar o número total de moléculas de ATP geradas para cada molécula de glicose, as 34 provenientes da quimiosmose são adicionadas àquelas geradas pela oxidação na glicólise e no ciclo de Krebs. Na respiração aeróbica em procariotos, um total de 38 moléculas de ATP pode ser gerado a partir de uma molécula de glicose. Observe que quatro desses ATPs vêm da fosforilação em nível de substrato na glicólise e no ciclo de Krebs.

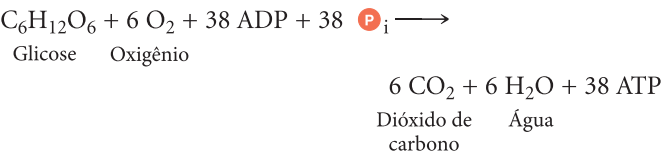
Tabela 5.3 Rendimento de ATP durante a respiração aeróbica procariótica de uma molécula de glicose

Fonte	Rendimento em ATP (Método)
Glicólise	
1. Oxidação da glicose a ácido pirúvico	2 ATP (fosforilação em nível de substrato)
2. Produção de 2 NADH	6 ATP (fosforilação oxidativa na cadeia de transporte de elétrons)
Etapa preparatória	
1. Formação de acetil-CoA produz 2 NADH	6 ATP (fosforilação oxidativa na cadeia de transporte de elétrons)
Ciclo de Krebs	
1. Oxidação de succinil-CoA em ácido succínico	2 GTP (equivalente ao ATP; fosforilação em nível de substrato)
2. Produção de 6 NADH	18 ATP (fosforilação oxidativa na cadeia de transporte de elétrons)
3. Produção de 2 FADH	4 ATP (fosforilação oxidativa na cadeia de transporte de elétrons)
	Total: 38 ATP

Ciclo de Krebs
ATP

A **Tabela 5.3** fornece um balanço detalhado do rendimento de ATP durante a respiração aeróbica procariótica.

A respiração aeróbica em eucariotos produz um total de 36 moléculas de ATP. Há menos ATPs que em procariotos porque parte da energia é perdida quando os elétrons são expelidos através das membranas mitocondriais que separam a glicólise (no citoplasma) da cadeia de transporte de elétrons. Essa separação não existe em procariotos. Podemos agora resumir a reação global para a respiração aeróbica em procariotos como segue:

$$\underset{\text{Glicose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Oxigênio}}{6\,O_2} + 38\,ADP + 38\,Ⓟ_i \longrightarrow \underset{\text{Dióxido de carbono}}{6\,CO_2} + \underset{\text{Água}}{6\,H_2O} + 38\,ATP$$

Um resumo das várias etapas da respiração aeróbica em procariotos é apresentado na **Figura 5.17**

Respiração anaeróbica

Na respiração anaeróbica, o aceptor final de elétrons é uma substância inorgânica diferente do oxigênio (O_2). Algumas bactérias, como *Pseudomonas* e *Bacillus*, podem utilizar o íon nitrato (NO_3^-) como um aceptor final de elétrons; o íon nitrato é reduzido a íon nitrito (NO_2^-), óxido nitroso (N_2O) ou nitrogênio gasoso (N_2). Outras bactérias, como *Desulfovibrio,* utilizam sulfato (SO_4^{2-}) como o aceptor final de elétrons para formar sulfeto de hidrogênio (H_2S). Outras bactérias ainda utilizam carbonato (CO_3^{2-}) para formar metano (CH_4). A respiração anaeróbica por bactérias utilizando nitrato e sulfato como aceptores finais é essencial para os ciclos do nitrogênio e do enxofre que ocorrem na natureza. A quantidade de ATP gerada na respiração anaeróbica varia com o micro-organismo e a via. Como somente uma parte do ciclo de Krebs funciona sob condições anaeróbicas, e nem todos os carreadores na cadeia de transporte de elétrons participam na respiração anaeróbica, o rendimento de ATP nunca é tão elevado quanto na respiração aeróbica. Consequentemente, os anaeróbicos tendem a crescer mais lentamente que os aeróbicos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Quais são os principais produtos do ciclo de Krebs? **5-13**
- ✓ Como as moléculas carreadoras agem na cadeia de transporte de elétrons? **5-14**
- ✓ Compare o rendimento de energia (ATP) na respiração aeróbica e na anaeróbica. **5-15**

Fermentação

Após a glicose ter sido quebrada em ácido pirúvico, esse ácido pode ser completamente quebrado na respiração, como descrito previamente, ou pode ser convertido em um produto orgânico na fermentação, quando NAD^+ ou $NADP^+$ são regeneradas e podem entrar em uma nova sequência da glicólise (veja a Figura 5.11). A **fermentação** pode ser definida de diversas maneiras (veja o quadro na página 135), mas nós a definimos aqui como um processo que:

1. Libera energia a partir de açúcares ou outras moléculas orgânicas, como aminoácidos, ácidos orgânicos, purinas e pirimidinas.
2. Não requer oxigênio (mas algumas vezes pode ocorrer presença dele).

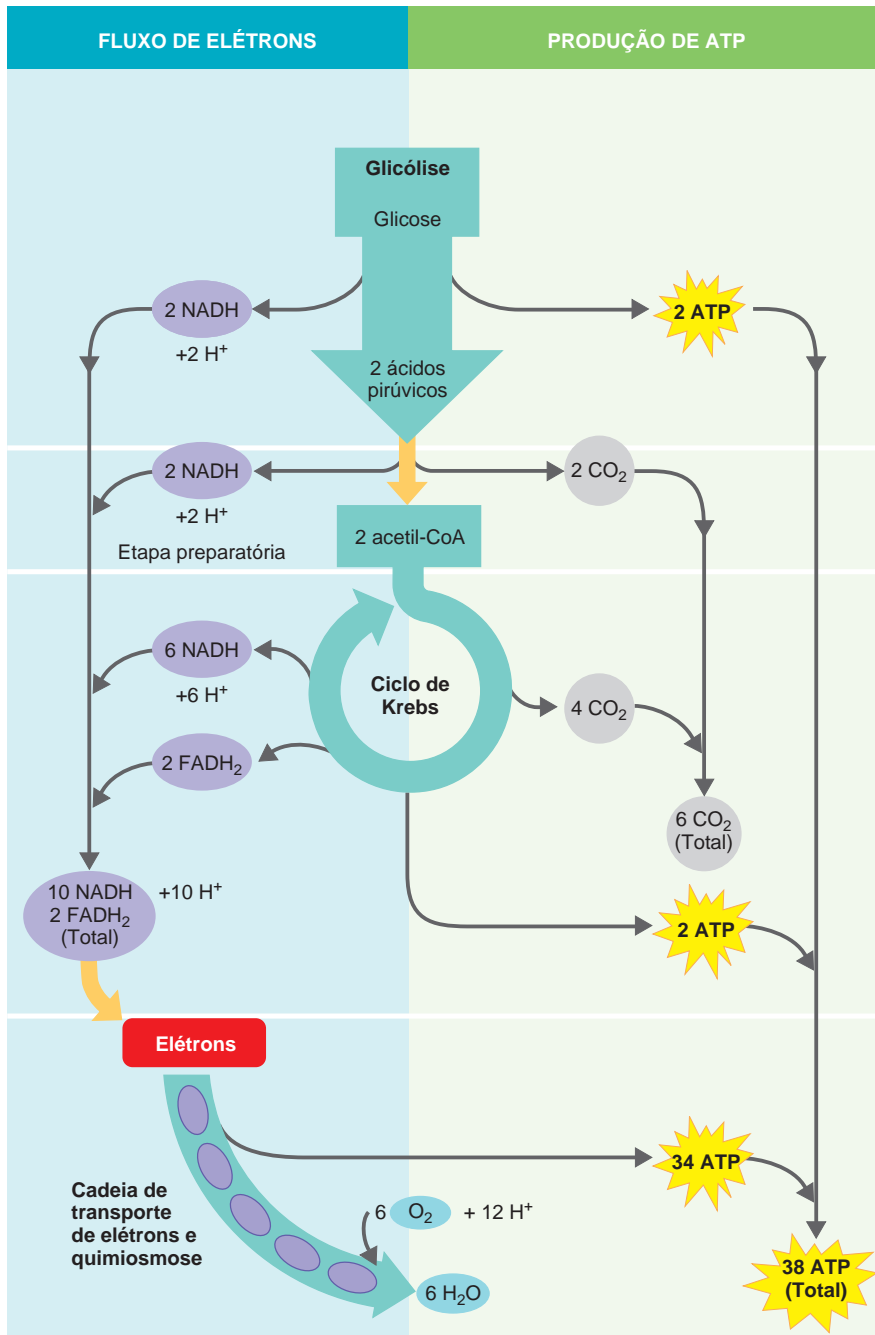



Figura 5.17 Resumo da respiração aeróbica em procariotos. A glicose é completamente quebrada em dióxido de carbono e água, e ATP é gerado. Esse processo tem três fases principais: a glicólise, o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons. A etapa preparatória está entre a glicólise e o ciclo de Krebs. O evento essencial na respiração aeróbica é que os elétrons são extraídos dos intermediários da glicólise e do ciclo de Krebs por NAD^+ ou FAD e carreados por NADH ou $FADH_2$ até a cadeia de transporte de elétrons. NADH também é produzida durante a conversão de ácido pirúvico em acetil-CoA. A maioria do ATP gerado pela respiração aeróbica é produzida pelo mecanismo de quimiosmose durante a fase da cadeia de transporte de elétrons; isto é chamado de fosforilação oxidativa.

P Em que diferem a respiração aeróbica e a anaeróbica?

3. Não requer a utilização do ciclo de Krebs ou de uma cadeia de transporte de elétrons.
4. Utiliza uma molécula orgânica como aceptor final de elétrons.
5. Produz somente uma pequena quantidade de ATP (somente uma ou duas moléculas de ATP para cada molécula de matéria inicial), porque grande parte da energia original na glicose permanece nas ligações químicas dos produtos orgânicos finais, como o ácido láctico ou o etanol.

Durante a fermentação, os elétrons são transferidos (juntamente com os prótons) das coenzimas reduzidas (NADH, NADPH) para o ácido pirúvico ou seus derivados (**Figura 5.18a**). Esses aceptores finais de elétrons são reduzidos aos produtos finais mostrados na **Figura 5.18b**. Uma função essencial da segunda etapa da fermentação é garantir um fornecimento constante de NAD^+ e $NADP^+$ para a glicólise poder continuar. Na fermentação, ATP é gerado somente durante a glicólise.

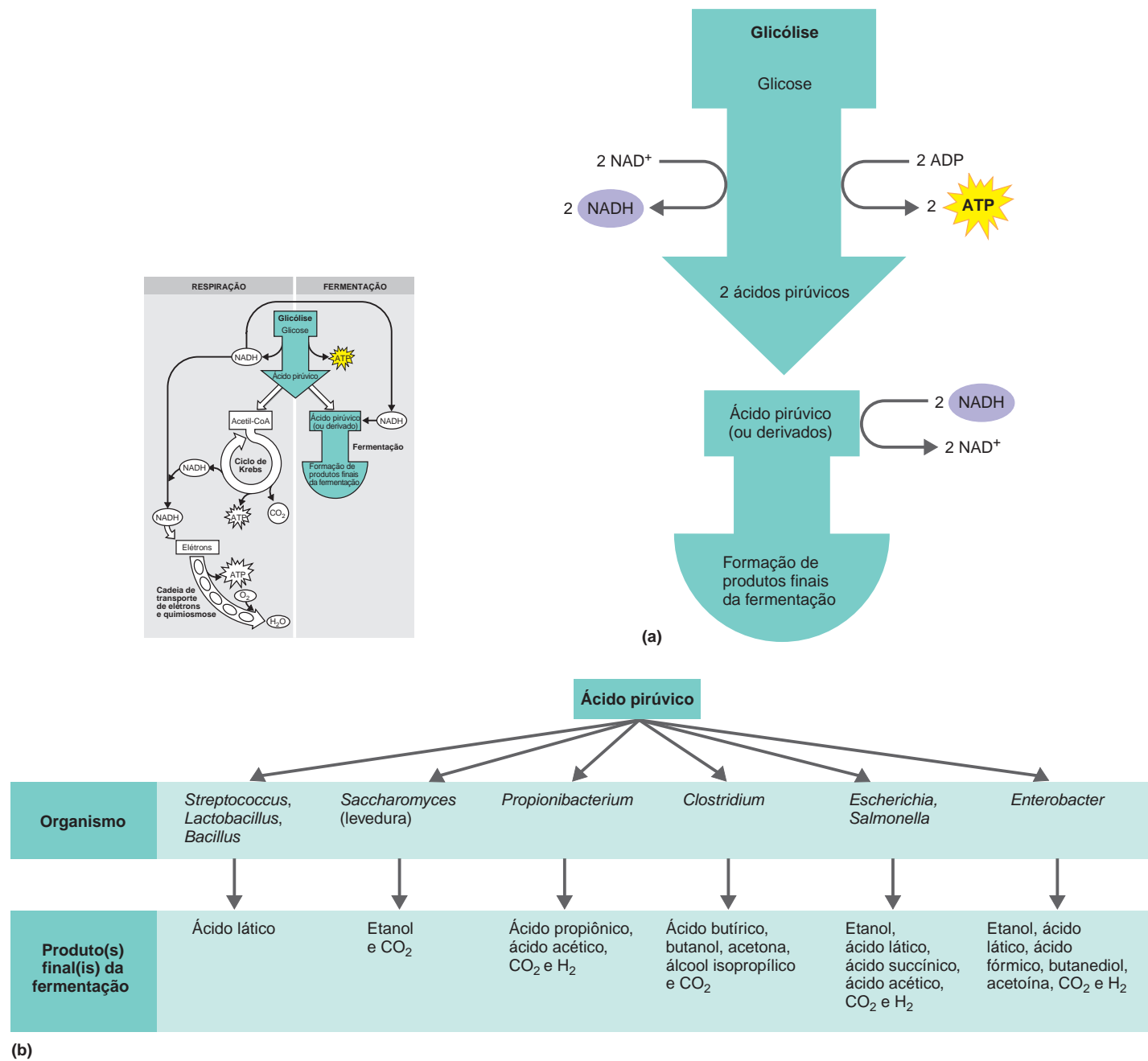



Figura 5.18 **Fermentação.** O diagrama indica a relação da fermentação com os processos de produção de energia. **(a)** Visão geral da fermentação. O primeiro passo é a glicólise, a conversão da glicose em ácido pirúvico. No segundo passo, as coenzimas reduzidas da glicólise ou suas alternativas (NADH, NADPH) doam seus elétrons e íons hidrogênio ao ácido pirúvico ou a um derivado para formar um produto final da fermentação. **(b)** Produtos finais de várias fermentações microbianas.

P Durante qual fase da fermentação o ATP é gerado?

Os micro-organismos podem fermentar vários substratos; os produtos finais dependem do micro-organismo específico, do substrato e das enzimas que estão presentes e ativas. Análises químicas desses produtos finais são úteis para identificar os micro-organismos. Consideraremos a seguir dois dos mais importantes processos: a fermentação do ácido lático e a fermentação alcoólica.

O que é fermentação?

Para muitas pessoas, fermentação significa simplesmente a produção de álcool: grãos e frutas são fermentados para produzir cerveja ou vinho. Se um alimento azeda, podemos dizer que ele "estragou" ou fermentou. Aqui estão algumas definições para fermentação. Elas variam entre informal e de uso geral até definições mais científicas.

1. Qualquer deterioração de alimento por micro-organismos (uso geral).
2. Qualquer processo que produz bebidas alcoólicas ou laticínios acidificados (uso geral).
3. Qualquer processo microbiano em grande escala ocorrendo com ou sem ar (definição comum utilizada na indústria).
4. Qualquer processo metabólico liberando energia que ocorra sob condições anaeróbicas (tornando-se mais científica).
5. Qualquer processo metabólico que libera energia de um açúcar ou de outra molécula orgânica, que não requer oxigênio ou um sistema de transporte de elétrons e utiliza uma molécula orgânica como aceptor final de elétrons (essa é a definição que usamos neste livro).

Fermentação do ácido lático

Durante a glicólise, que é a primeira fase da **fermentação do ácido lático**, uma molécula de glicose é oxidada em duas moléculas de ácido pirúvico (**Figura 5.19**; veja também a Figura 5.10). Essa oxidação gera a energia que é utilizada para formar duas moléculas de ATP. No próximo passo, as duas moléculas de ácido pirúvico são reduzidas por duas moléculas de NADH para formar duas moléculas de ácido lático (**Figura 5.19a**). Como o ácido lático é o produto final da reação, ele não sofre mais oxidação, e a maior parte da energia produzida pela reação permanece armazenada no ácido. Portanto, essa fermentação produz somente uma pequena quantidade de energia.

Dois importantes gêneros de bactérias do ácido lático são os *Streptococcus* e os *Lactobacillus*. Como esses micro-organismos produzem somente ácido lático, eles são denominados **homoláticos** (ou *homofermentativos*). A fermentação do ácido lático pode resultar na deterioração de alimentos. Contudo, o processo também pode produzir iogurte a partir de leite, chucrute a partir de repolho e conservas de pepino.

Fermentação alcoólica

A **fermentação alcoólica** começa também com a glicólise de uma molécula de glicose para produzir duas moléculas de ácido pirúvico e duas moléculas de ATP. Na reação seguinte, as duas moléculas de ácido pirúvico são convertidas em duas moléculas de acetaldeído e duas moléculas de CO_2 (**Figura 5.19b**). As duas moléculas de acetaldeído são então reduzidas por duas moléculas de NADH para formar duas moléculas de etanol. Outra vez, a fermentação alcoólica é um processo de baixo rendimento energético porque a maioria da energia contida na molécula inicial de glicose permanece no etanol, produto final.

A fermentação alcoólica é realizada por diversas bactérias e leveduras. O etanol e o dióxido de carbono produzidos pela levedura *Saccharomyces* são resíduos para as células de leveduras, mas são úteis para os seres humanos. O etanol produzido pelas leveduras é o álcool das bebidas alcoólicas, e o dióxido de carbono produzido pelas leveduras causa o crescimento da massa do pão.

Os organismos que produzem ácido lático junto com outros ácidos ou alcoóis são conhecidos como **heteroláticos** (ou *heterofermentativos*) e muitas vezes utilizam a via da pentose-fosfato.

A **Tabela 5.4** lista algumas das várias fermentações microbianas utilizadas na indústria para converter matérias primas baratas em produtos finais úteis. A **Tabela 5.5** fornece uma comparação resumida da respiração aeróbica, da respiração anaeróbica e da fermentação.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Liste quatro produtos que podem ser produzidos a partir do ácido pirúvico por um micro-organismo que utiliza a fermentação. **5-16**

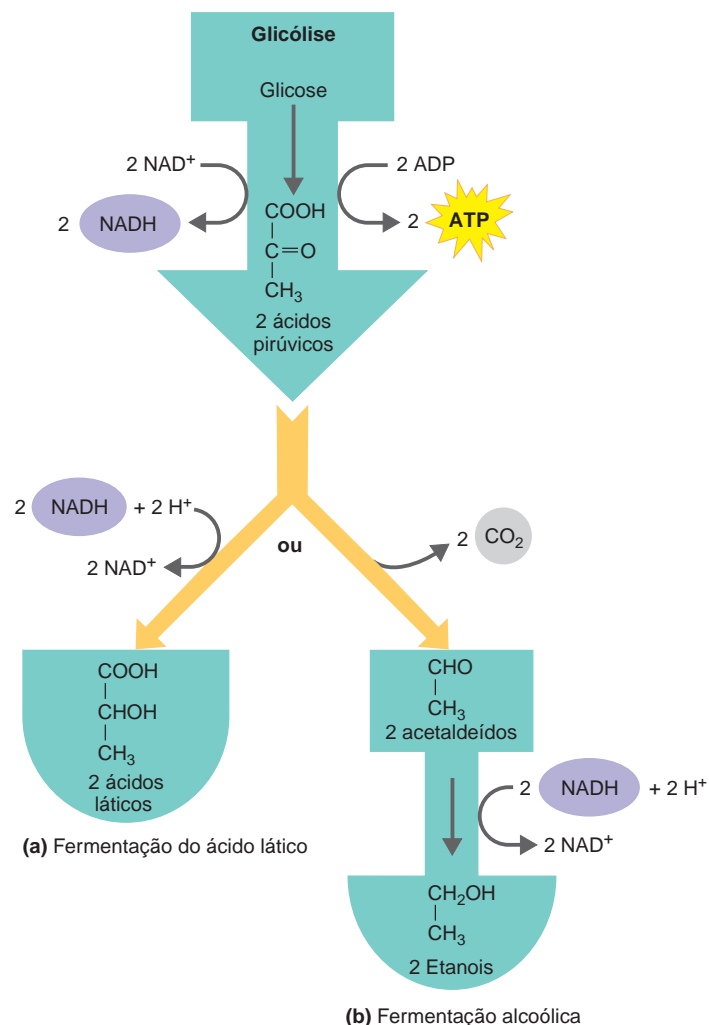



Figura 5.19 **Tipos de fermentação.**

P **Qual a diferença entre fermentação homolática e heterolática?**

Figura 5.20 **Catabolismo dos lipídeos.** O glicerol é convertido em diidroxiacetona-fosfato (DHAP) e catabolizado via glicólise e ciclo de Krebs. Os ácidos graxos sofrem β-oxidação, na qual fragmentos de dois carbonos são liberados a cada vez para formar acetil-CoA, que é catabolizada no ciclo de Krebs.

P **Qual é a função das lipases?**

Catabolismo dos lipídeos e das proteínas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

5-17 Descrever como os lipídeos e as proteínas são submetidos ao catabolismo.

Nossa discussão sobre produção de energia tem enfatizado a oxidação da glicose, o principal carboidrato do suprimento de energia. Contudo, os micro-organismos também oxidam lipídeos e proteínas, e as oxidações de todos esses nutrientes estão relacionadas.

Recorde-se de que as gorduras são lipídeos consistindo de ácidos graxos e glicerol. Os micro-organismos produzem enzimas extracelulares chamadas de *lipases*, que quebram as gorduras nos seus componentes ácidos graxos e glicerol. Cada componente é então metabolizado separadamente (**Figura 5.20**). O ciclo de Krebs funciona na oxidação do glicerol e dos ácidos graxos. Muitas bactérias que hidrolisam os ácidos graxos podem utilizar as mesmas enzimas para degradar produtos do petróleo. Embora essas bactérias sejam danosas quando crescem nos tanques de armazenamento de combustível, elas são benéficas quando crescem em derramamento de óleo. A β-oxidação (oxidação dos ácidos graxos) do petróleo é ilustrada no quadro do Capítulo 2 (página 33).

As proteínas são grandes demais para atravessarem sem ajuda as membranas plasmáticas. Os micro-organismos produzem *proteases* e *peptidases* extracelulares, que quebram as proteínas nos seus componentes aminoácidos, os quais podem então atravessar as membranas. Contudo, antes de os aminoácidos poderem ser catabolizados, eles devem ser convertidos enzimaticamente em outras substâncias que possam entrar no ciclo de Krebs. Em uma dessas conversões, chamada de **desaminação**, o grupo amino de um aminoácido é removido e convertido em íon amônio (NH_4^+), que pode ser excretado pela célula. O ácido orgânico restante pode entrar no

Tabela 5.4 Alguns usos industriais para diferentes tipos de fermentações*

Produto final da fermentação	Uso comercial ou industrial	Material inicial	Micro-organismo
Etanol	Cerveja	Extrato de malte	*Saccharomyces cerevisiae* (levedura, um fungo)
	Vinho	Uva ou outros sucos de frutas	*Saccharomyces cerevisiae* (levedura)
	Combustível	Resíduos agrícolas	*Saccharomyces cerevisiae* (levedura)
Ácido acético	Vinagre	Etanol	*Acetobacter*
Ácido lático	Queijo, iogurte	Leite	*Lactobacillus, Streptococcus*
	Pão de centeio	Grão, açúcar	*Lactobacillus delbruckii*
	Chucrute	Repolho	*Lactobacillus plantarum*
	Salsicha, linguiça	Carne	*Pediococcus*
Ácido propiônico e dióxido de carbono	Queijo suíço	Ácido lático	*Propionibacterium freudenreichii*
Acetona e butanol	Usos farmacêutico e industrial	Melaço	*Clostridium acetobutylicum*
Glicerol	Usos farmacêutico e industrial	Melaço	*Saccharomyces cerevisiae* (levedura)
Ácido cítrico	Sabor	Melaço	*Aspergillus* (fungo)
Metano	Combustível	Ácido acético	*Methanosarcina*
Sorbose	Vitamina C (ácido ascórbico)	Sorbitol	*Gluconobacter*

*A menos que sejam indicados como de outro tipo, os micro-organismos listados são bactérias.

Tabela 5.5 Comparação entre respiração aeróbica, respiração anaeróbica e fermentação

Processo de produção de energia	Condições de crescimento	Aceptor final de hidrogênio (elétrons)	Tipo de fosforilação utilizada para gerar ATP	Moléculas de ATP produzidas por molécula de glicose
Respiração aeróbica	Aerobiose	Oxigênio molecular (O_2)	Em nível de substrato e oxidativa	36 (eucariotos) ou 38 (procariotos)
Respiração anaeróbica	Anaerobiose	Normalmente uma substância inorgânica (como NO_3^-, SO_4^{2-} ou CO_3^{2-}, mas não o oxigênio molecular (O_2)	Em nível de substrato e oxidativa	Variável (menor que 38, mas maior que 2)
Fermentação	Aerobiose ou anaerobiose	Uma molécula orgânica	Em nível de substrato	2

ciclo de Krebs. Outras conversões envolvem a **descarboxilação** (a remoção de –COOH) e a **desidrogenação**.

Um resumo das relações entre o catabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas é mostrado na Figura 5.21.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são os produtos finais do catabolismo de lipídeos e proteínas? **5-17**

Testes bioquímicos e identificação bacteriana

OBJETIVO DO APRENDIZADO

5-18 Descrever dois exemplos de utilização de testes bioquímicos para identificar bactérias no laboratório.

Testes bioquímicos frequentemente são utilizados para identificar bactérias e leveduras, pois diferentes espécies produzem enzimas

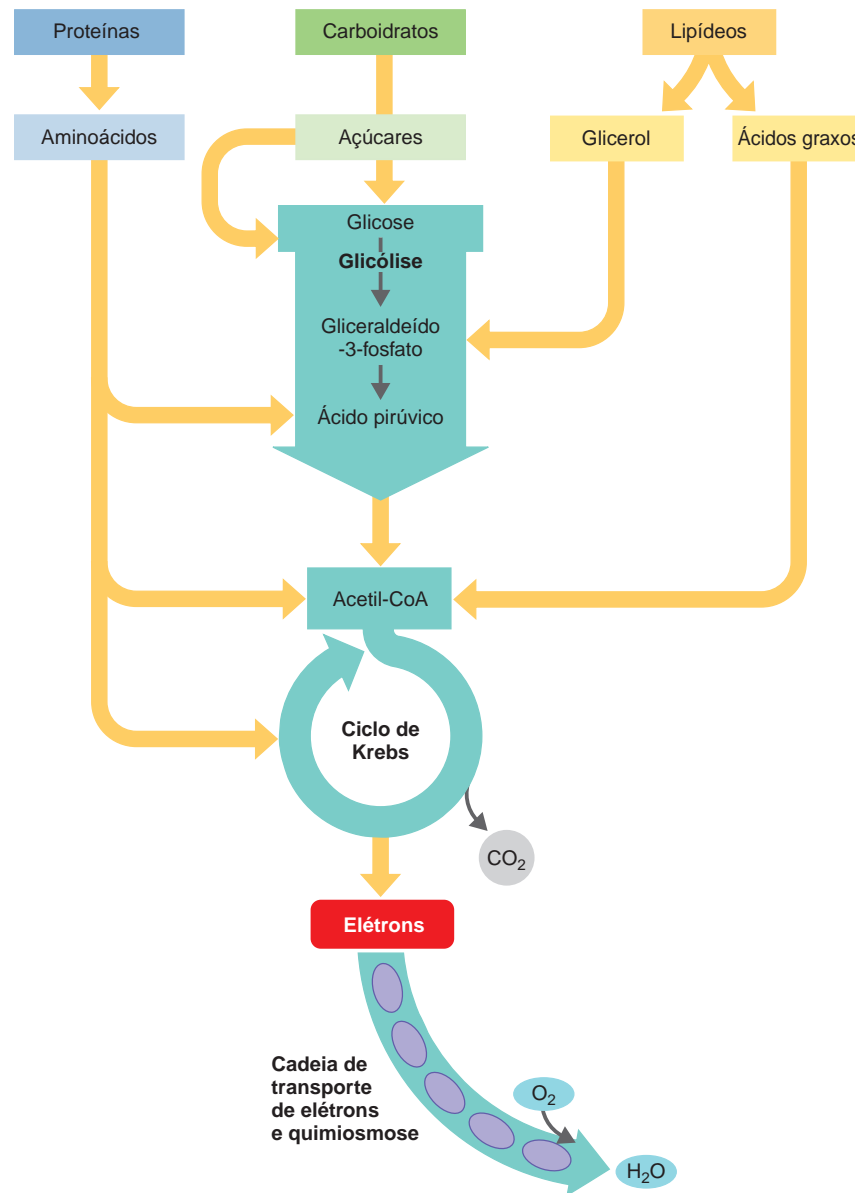



Figura 5.21 **Catabolismo de várias moléculas orgânicas de alimentos.** Proteínas, carboidratos e lipídeos podem ser fontes de elétrons e prótons para a respiração. Essas moléculas alimentares entram na glicólise ou no ciclo de Krebs em vários pontos.

P **Quais são as vias metabólicas pelas quais elétrons de alta energia de todos os tipos de moléculas orgânicas fluem nas suas vias de liberação de energia?**

diferentes. Tais testes são projetados para detectar a presença de enzimas. Um tipo de teste bioquímico é a detecção de enzimas que catabolizam aminoácidos envolvidos na descarboxilação ou na desidrogenação (discutidas na página 122; **Figura 5.22**).

Outro tipo de teste é o **teste de fermentação**. O meio testado contém proteínas, um único carboidrato, um indicador de pH e um tubo de Durham invertido para capturar gás (**Figura 5.23a**). Bactérias inoculadas no tubo podem utilizar a proteína ou o carboidrato como fonte de carbono e energia. Se elas catabolizam o carboidrato e produzem ácido, o indicador de pH muda de cor. Alguns micro-organismos produzem gás, assim como ácido, a partir do catabolismo do carboidrato. A presença de uma bolha no tubo de Durham indica a formação de gás (**Figura 5.23b-d**).

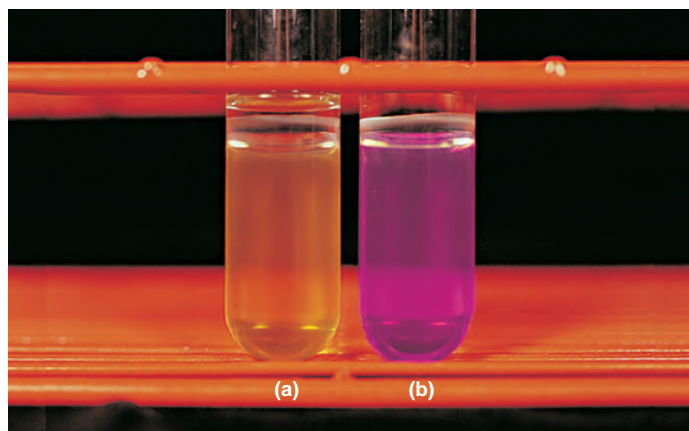



Figura 5.22 **Detecção no laboratório de enzimas que catabolizam aminoácidos.** As bactérias são inoculadas em tubos contendo glicose, um indicador de pH e um aminoácido específico. **(a)** O indicador de pH se torna amarelo quando a bactéria produz ácido a partir de glicose. **(b)** Produtos alcalinos da descarboxilação tornam o indicador púrpura.

P **O que é descarboxilação?**

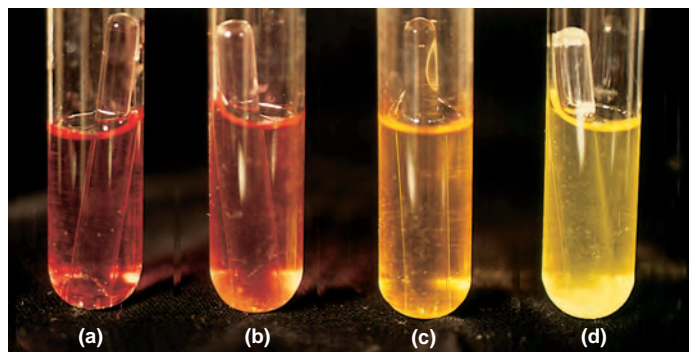
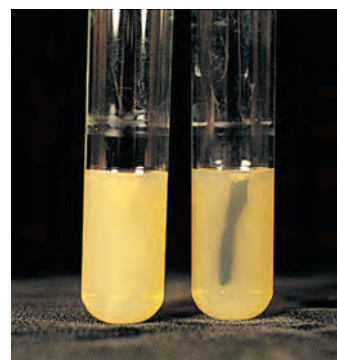



Figura 5.23 **Teste de fermentação.** **(a)** Um tubo de fermentação não inoculado contendo o carboidrato manitol. **(b)** *Staphylococcus epidermidis* cresceu na proteína, mas não utilizou o carboidrato. Esse organismo é denominado manitol-. **(c)** *Staphylococcus aureus* produziu ácido, mas não gás. Essa espécie é manitol+. **(d)** *Escherichia coli* também é manitol+ e produziu ácido e gás a partir de manitol. O gás é captado no tubo invertido de Durham.

P **No que *S. epidermidis* cresce?**

P&R *E. coli* fermenta o carboidrato sorbitol. A linhagem *E. coli* O157, contudo, não realiza essa fermentação, uma característica que a diferencia da *E. coli* comensal não patogênica.

Outro exemplo da utilização de testes bioquímicos é mostrado na Figura 10.8 na página 285.

Em alguns casos, os produtos residuais de um micro-organismo podem ser utilizados como fonte de carbono e energia por outra espécie. As bactérias *Acetobacte*r oxidam o etanol produzido pelas leveduras. *Propionibacterium* pode utilizar o ácido lático produzido por outras bactérias. As propionibactérias convertem o ácido lático em ácido pirúvico na preparação para o ciclo de Krebs. Durante o ciclo, ácido propiônico e CO_2 são formados. Os orifícios no queijo suíço são formados pelo acúmulo de gás CO_2.

Testes bioquímicos são utilizados para identificar bactérias que causam doenças. Todas as bactérias aeróbicas utilizam uma cadeia de transporte de elétrons, mas nem todas suas cadeias são idênticas. Algumas bactérias têm citocromo *c*, enquanto outras não. Nas primeiras, a *citocromo c-oxidase* é a última enzima, que transfere os elétrons ao oxigênio. O teste da oxidase é utilizado para identificar rapidamente *Neisseria gonorrheae*. *Neisseria* é positiva para a citocromo-oxidase. O teste da oxidase também pode ser utilizado para distinguir alguns bastonetes gram-negativos: *Pseudomonas* é oxidase-positiva e *Escherichia* é oxidase-negativa.

Shigella pode causar disenteria, sendo diferenciada de *E. coli* por testes bioquímicos. Ao contrário da *E. coli, a Shigella* não produz gás a partir da lactose e não produz a enzima lactato-desidrogenase.

As bactérias *Salmonella* são facilmente diferenciadas de *E. coli* pela produção de sulfeto de hidrogênio (H_2S), que é liberado quando elas removem o enxofre dos aminoácidos (**Figura 5.24**). O H_2S combina com o ferro para formar um precipitado preto no meio de cultura.

O quadro na página 144 descreve como os testes bioquímicos foram utilizados para determinar a causa de uma doença em uma criança na Cidade de Nova Iorque.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Em que bases bioquímicas *Pseudomonas* e *Escherichia* são diferenciadas? **5-18**

Figura 5.24 **Utilização do ágar íon peptona para detectar a produção de H_2S.** O H_2S produzido no tubo precipita com o ferro do meio para formar sulfeto ferroso.

P **Qual a reação química causa a liberação de H_2S?**

Fotossíntese

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

5-19 Comparar e diferenciar fotofosforilação cíclica e acíclica.

5-20 Comparar e diferenciar as reações da fotossíntese dependentes de luz e independentes de luz.

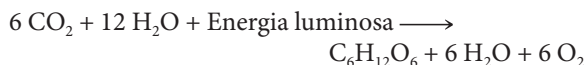
5-21 Comparar e diferenciar fosforilação oxidativa e fotofosforilação.

Em todas as vias metabólicas já discutidas, os organismos obtêm energia para o trabalho celular pela oxidação de compostos orgânicos. Mas onde os organismos obtêm esses compostos? Alguns, incluindo os animais e muitos micro-organismos, alimentam-se da matéria produzida por outros organismos. Por exemplo, as bactérias podem catabolizar compostos de plantas e animais mortos, ou podem obter nutriente de um hospedeiro vivo.

Outros organismos sintetizam compostos orgânicos complexos a partir de substâncias inorgânicas simples. O principal mecanismo para essa síntese é um processo chamado de **fotossíntese**, utilizado pelas plantas e por muitos micro-organismos. Basicamente, a fotossíntese é a conversão da energia luminosa do sol em energia química. A energia química é então utilizada para converter o CO_2 da atmosfera em compostos de carbono mais reduzidos, principalmente açúcares. A palavra *fotossíntese* resume o processo: *foto* significa luz e *síntese* se refere à montagem de compostos orgânicos. Essa síntese de açúcares pela utilização dos átomos de carbono do gás CO_2 também é chamada de **fixação do carbono**. A manutenção da vida como a conhecemos na Terra depende da reciclagem do carbono dessa maneira (veja a Figura 27.3 na página 769). Cianobactérias, algas e plantas verdes contribuem para essa reciclagem vital realizando a fotossíntese.

A fotossíntese pode ser resumida com as seguintes equações:

1. Plantas, algas e cianobactérias utilizam a água como doador de hidrogênio, liberando O_2.

$$6\ CO_2 + 12\ H_2O + \text{Energia luminosa} \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O + 6\ O_2$$

2. As bactérias púrpuras e verdes do enxofre utilizam H_2S como doador de enxofre, produzindo grânulos de enxofre.

$$6\ CO_2 + 12\ H_2S + \text{Energia luminosa} \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O + 12\ S$$

Durante a fotossíntese, os elétrons são obtidos a partir dos átomos de hidrogênio da água, uma molécula com pouca energia, sendo depois incorporados em um açúcar, uma molécula rica em energia. A energia obtida é suplementada pela energia luminosa, mesmo que indiretamente.

A fotossíntese ocorre em duas etapas. Na primeira, chamada de **reações dependentes de luz** (**luminosas**), a energia luminosa é utilizada para converter ADP e (P) em ATP. Além disso, na forma predominante das reações dependentes de luz, o carreador de elétrons $NADP^+$ é reduzido a NADPH. A coenzima NADPH, como NADH, é um carreador de elétrons rico em energia. Na segunda etapa, as **reações independentes de luz** (**escuras**), esses elétrons são utilizados juntamente com a energia do ATP para reduzir o CO_2 a açúcar.

As reações dependentes de luz: fotofosforilação

A fotofosforilação é uma das três vias para produzir ATP e ela somente ocorre em células fotossintéticas. Nesse mecanismo, a energia luminosa é absorvida por moléculas de clorofila na célula fotossintética, excitando alguns elétrons das moléculas. A clorofila utilizada principalmente pelas plantas verdes, algas e cianobactérias é a *clorofila a*. Ela está localizada nos tilacoides membranosos dos cloroplastos em algas e plantas verdes (veja a Figura 4.28, página 106) e nos tilacoides encontrados nas estruturas fotossintéticas das cianobactérias. Outras bactérias utilizam as *bacterioclorofilas*.

Os elétrons excitados passam da clorofila para a primeira série de moléculas carreadoras em uma cadeia de transporte de elétrons similar àquela utilizada na respiração. Enquanto os elétrons passam pela série de carreadores, prótons são bombeados através da membrana, e ADP é convertido em ATP por quimiosmose. Na **fotofosforilação cíclica**, os elétrons finalmente retornam para a clorofila (**Figura 5.25a**). Na **fotofosforilação acíclica**, que é a mais utilizada, os elétrons liberados não retornam para a clorofila, mas acabam incorporados ao NADPH (**Figura 5.25b**). Os elétrons perdidos da clorofila são substituídos por elétrons de H_2O. Para resumir, os produtos da fotofosforilação acíclica são ATP (formado por quimiosmose utilizando a energia liberada em uma cadeia de transporte de elétrons), O_2 (das moléculas da água) e NADPH (em que os elétrons e os prótons do hidrogênio são derivados da água).

As reações independentes de luz: o ciclo de Calvin-Benson

As reações independentes de luz (escuras) são assim chamadas por não requerem diretamente luz. Elas incluem uma via cíclica complexa chamada de **ciclo de Calvin-Benson**, em que o CO_2 é "fixado" – ou seja, utilizado para sintetizar açúcares (**Figura 5.26**; veja também a Figura A.1 no Apêndice A).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como a fotossíntese é importante para o catabolismo? **5-19**

✓ O que ocorre durante as reações dependentes de luz? **5-20**

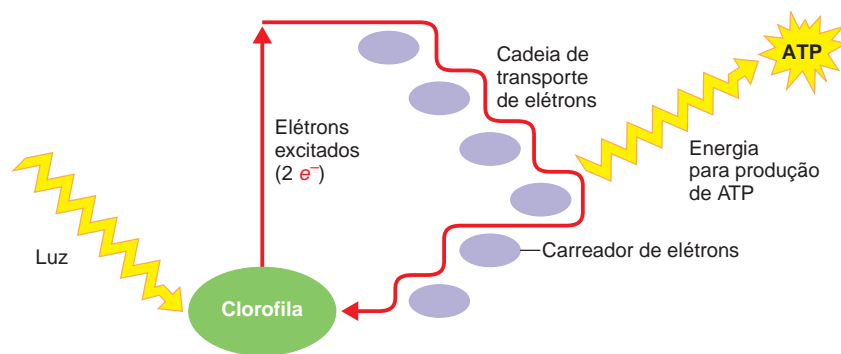
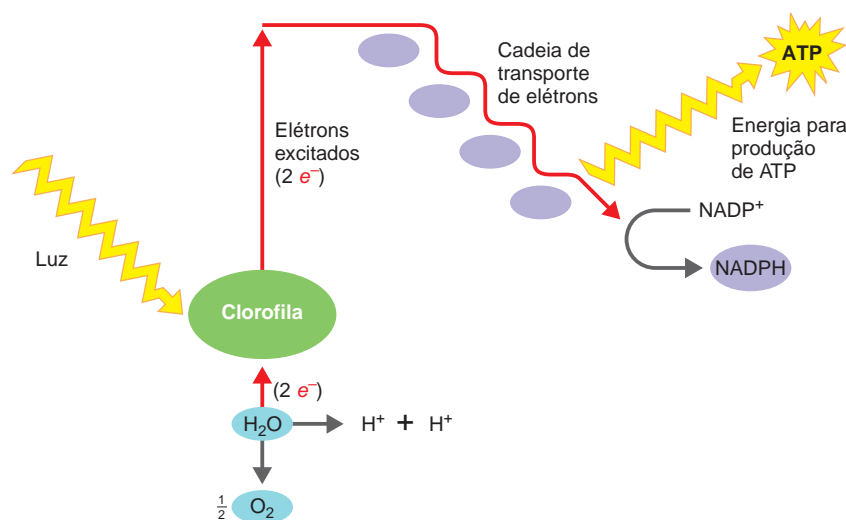
✓ Em que a fosforilação oxidativa e a fotofosforilação são similares? **5-21**

(a) Fotofosforilação cíclica

(b) Fotofosforilação acíclica

Figura 5.25 Fotofosforilação. (a) Na fotofosforilação cíclica, os elétrons liberados pela clorofila retornam para a clorofila após passagem ao longo da cadeia de transporte de elétrons. A energia da transferência de elétrons é convertida em ATP. **(b)** Na fotofosforilação acíclica, os elétrons liberados pela clorofila são substituídos por elétrons da água. Os elétrons da clorofila passam ao longo da cadeia de transporte até o aceptor de elétrons $NADP^+$. $NADP^+$ se combina com os elétrons e com os íons hidrogênio da água, formando NADPH.

P Em que as reações de fosforilação oxidativa e fotofosforilação são semelhantes?

Um resumo dos mecanismos de produção de energia

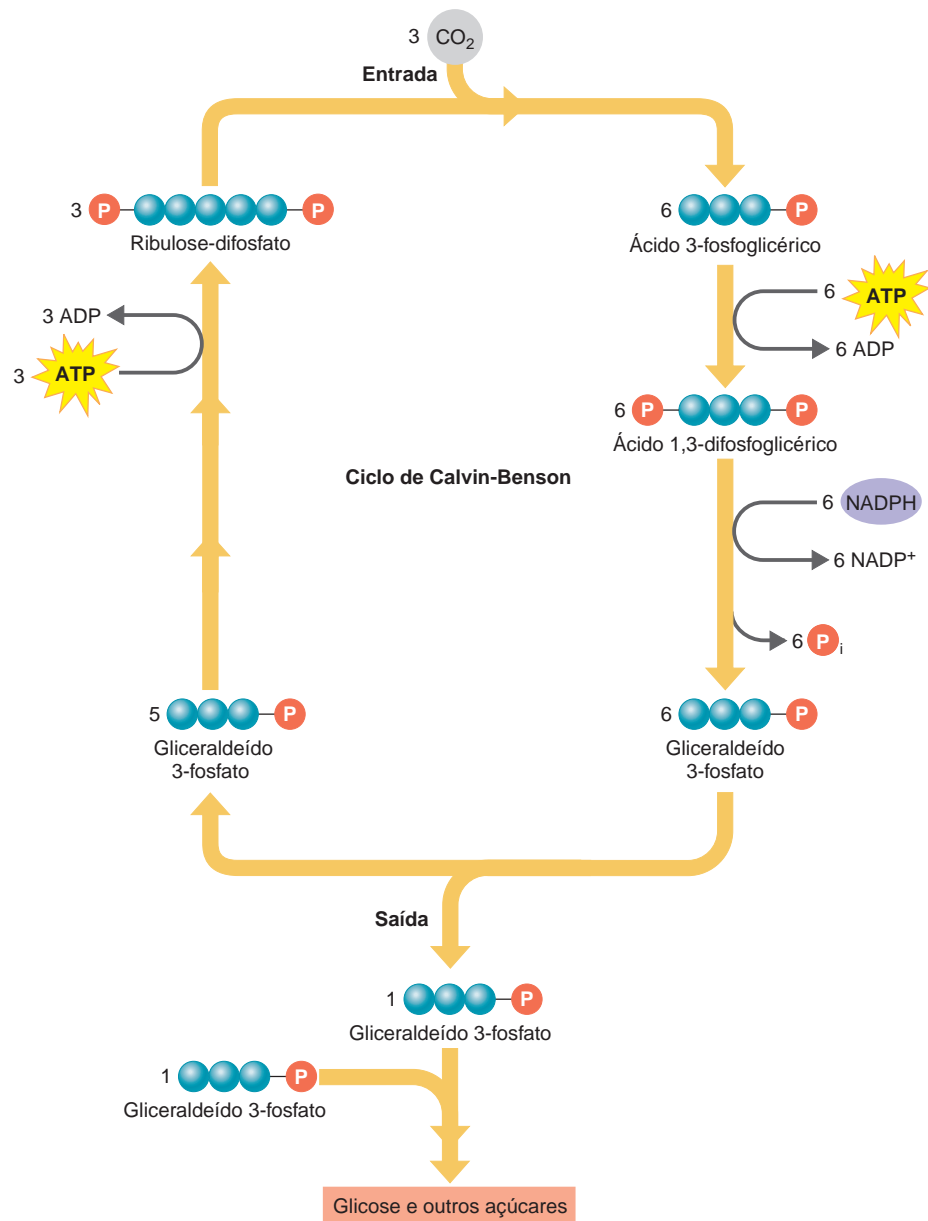
OBJETIVO DO APRENDIZADO

5-22 Escrever uma frase para resumir a produção de energia nas células.

No mundo vivo, a energia passa de um organismo para outro na forma de energia potencial contida nas ligações dos compostos químicos. Os organismos obtêm a energia das reações de oxidação. Para obter energia em uma forma utilizável, uma célula deve ter um doador de elétrons (ou hidrogênio), que serve como fonte inicial de energia dentro da célula. Os doadores de elétrons podem ser tão diversos quanto pigmentos fotossintéticos, glicose ou outros compostos orgânicos, enxofre elementar, amônia ou hidrogênio gasoso (**Figura 5.27**). A seguir, os elétrons removidos das fontes de energia química são transferidos para carreadores de elétrons, como as coenzimas NAD^+, $NADP^+$ e FAD. Essa transferência é uma reação de oxidação-redução; a fonte inicial de energia é oxidada enquanto seu primeiro carreador de elétrons é reduzido. Durante essa fase, algum ATP é produzido. No terceiro passo, os elétrons são transferidos dos carreadores para seus aceptores finais de elétrons em reações de oxidação-redução adicionais, produzindo mais ATP.

Na respiração aeróbica, o oxigênio (O_2) serve como aceptor final de elétrons. Na respiração anaeróbica, substâncias inorgânicas diferentes do oxigênio, como íons nitrato (NO_3^-) ou íons sulfato (SO_4^{2-}), servem de aceptores finais de elétrons. Na fermentação, compostos orgânicos servem como aceptores finais de elétrons. Nas respirações aeróbica e anaeróbica, uma série de carreadores de elétrons chamada de cadeia de transporte de elétrons libera energia que é utilizada pelo mecanismo de quimiosmose para sintetizar ATP. Apesar de suas fontes de energia, todos os organismos utilizam reações similares de oxidação-redução para transferir elétrons e mecanismos similares para utilizar a energia liberada para produzir ATP.

Figura 5.26 Uma versão simplificada do ciclo de Calvin-Benson. Este diagrama mostra três voltas do ciclo, nas quais três moléculas de CO_2 são fixadas e uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato é produzida e deixa o ciclo. Duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato são necessárias para produzir uma molécula de glicose. Portanto, o ciclo deve girar seis vezes para cada molécula de glicose produzida, requerendo um investimento total de 6 moléculas de CO_2, 18 moléculas de ATP e 12 moléculas de NADPH. Uma versão mais detalhada desse ciclo é apresentada na Figura A.1 no Apêndice A.

P No ciclo de Calvin-Benson, qual é a molécula utilizada para sintetizar açúcares?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Resuma como a oxidação permite aos organismos obter energia da glicose, do enxofre e da luz solar. **5-22**

Diversidade metabólica entre os organismos

OBJETIVO DO APRENDIZADO

5-23 Categorizar os vários padrões nutricionais entre os organismos de acordo com a fonte de carbono e os mecanismos de catabolismo de carboidratos e de geração de ATP.

Temos observado em detalhe algumas das vias metabólicas que geram energia e que são utilizadas por animais e plantas, assim como por muitos micro-organismos. Entretanto, os micro-organismos são distinguidos pela sua grande diversidade metabólica, e alguns podem se sustentar com substâncias inorgânicas, utilizando vias que não estão disponíveis para plantas e animais. Todos os organismos, incluindo os micro-organismos, podem ser classificados metabolicamente de acordo com seus *padrões nutricionais* – sua fonte de energia e sua fonte de carbono.

Considerando primeiro a fonte de energia, em geral podemos classificar os organismos como fototróficos ou quimiotróficos. Os **fototróficos** utilizam a luz como sua fonte primária de energia, enquanto os **quimiotróficos** dependem das reações de oxidação-redução de compostos inorgânicos ou orgânicos para energia. Para sua fonte principal de carbono, os **autotróficos** (alimentação própria) utilizam o dióxido de carbono, e os **heterotróficos** (alimentação dependente de outros) requerem uma fonte de carbo-

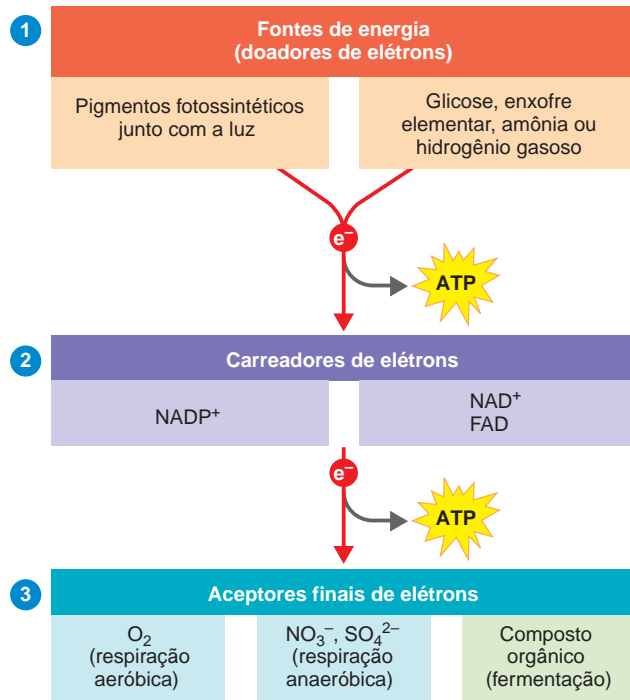



Figura 5.27 **Requerimento da produção de ATP.** A produção de ATP requer (1) uma fonte de energia (doador de elétrons), (2) a transferência dos elétrons para um carreador durante uma reação de oxidação-redução, e (3) a transferência dos elétrons para um aceptor final.

P **Oxidações e reduções são reações produtoras de energia?**

no orgânica. Os autotróficos também são chamados de *litotróficos* (consumidores de rochas), e os heterotróficos também são chamados de *organotróficos*.

Se combinarmos as fontes de energia e carbono, obteremos as seguintes classificações nutricionais para os organismos: *fotoautotróficos, foto-heterotróficos, quimioautotróficos* e *quimio-heterotróficos* (**Figura 5.28**). Quase todos os micro-organismos de importância médica discutidos neste livro são quimio-heterotróficos. Tipicamente, organismos infecciosos catabolizam substratos obtidos do hospedeiro.

Fotoautotróficos

Os **fotoautotróficos** utilizam a luz como fonte de energia e o dióxido de carbono como sua principal fonte de carbono. Eles incluem bactérias fotossintéticas (bactérias verdes e púrpuras e cianobactérias), algas e plantas verdes. Nas reações fotossintéticas de cianobactérias, algas e plantas verdes, os átomos de hidrogênio da água são utilizados para reduzir o dióxido de carbono, e o oxigênio gasoso é liberado. Como esse processo fotossintético produz O_2, algumas vezes é chamado de **oxigênico**.

Além das cianobactérias (veja a Figura 11.13, página 314), existem várias outras famílias de procariotos fotossintéticos. Cada uma é classificada de acordo com sua via de redução de CO_2. Essas bactérias não podem utilizar H_2O para reduzir CO_2 e não podem realizar a fotossíntese quando o oxigênio está presente (elas precisam de um ambiente anaeróbico). Consequentemente, seu processo fotossintético não produz O_2, sendo chamado de **anoxigênico**. Os fotoautotróficos anoxigênicos são as bactérias ver-

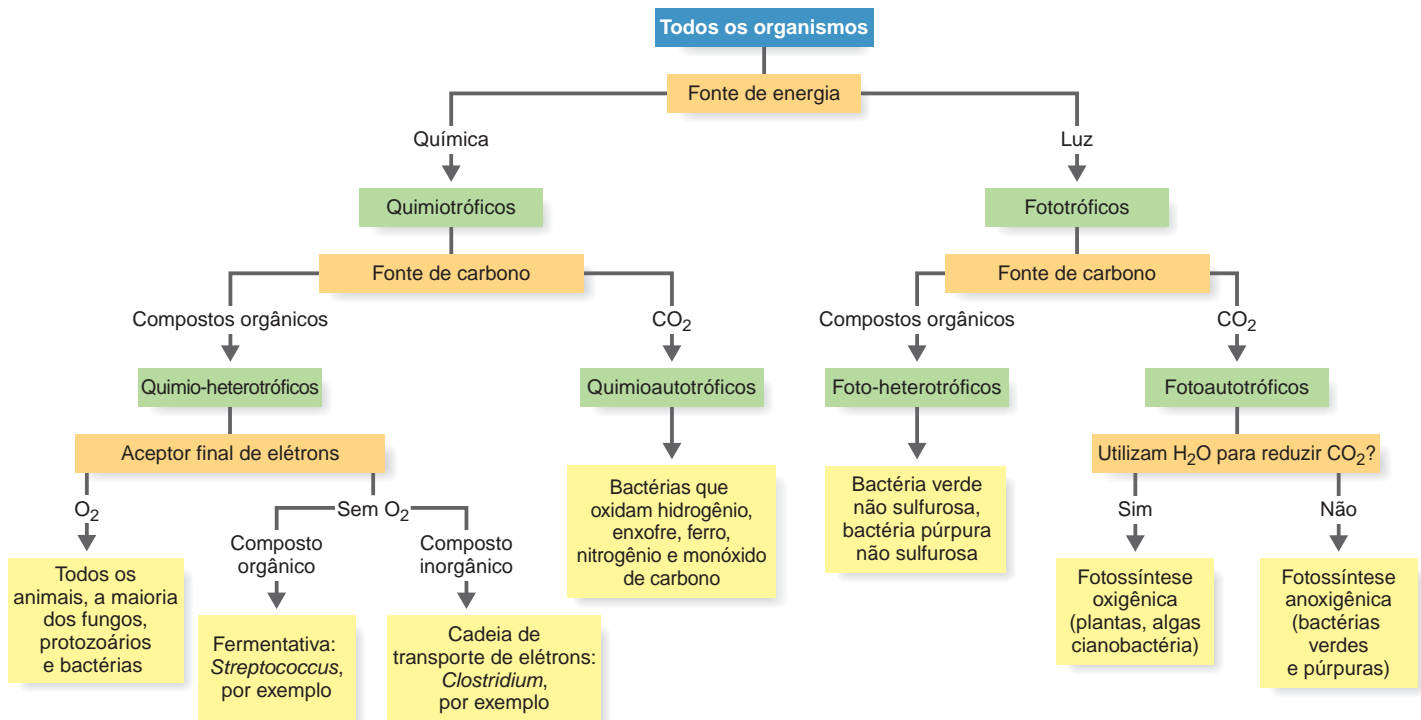



Figura 5.28 **Uma classificação nutricional dos organismos.**

P **Qual a diferença básica entre quimiotróficos e fototróficos?**

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Tuberculose humana – cidade de Nova Iorque

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os técnicos de laboratório se perguntam quando identificam uma bactéria. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. Um menino americano de 15 meses de idade da Cidade de Nova Iorque morreu de tuberculose peritoneal (TB). Causada por diversas espécies estritamente relacionadas do complexo *Mycobacterium tuberculosis,* a TB é uma condição relatada com frequência nos Estados Unidos. A TB peritoneal é uma doença dos intestinos e da cavidade abdominal.
   Qual órgão normalmente está associado com a tuberculose? Como alguém pode contrair a TB peritoneal?
2. A TB pulmonar é contraída por inalação das bactérias; a ingestão das bactérias pode resultar em TB peritoneal. O primeiro passo é observar bactérias ácido-álcool resistentes em nódulos dos órgãos do menino.
   Qual é o próximo passo?
3. A identificação da espécie do complexo *M. tuberculosis* é feita por testes bioquímicos em laboratórios de referência. As bactérias devem ser cultivadas em meio de cultura. As micobactérias de crescimento lento podem levar mais de seis semanas para formar colônias.
   Após as colônias terem sido isoladas, qual é o passo seguinte?
4. Neste caso, as bactérias são de crescimento lento. De acordo com o esquema de identificação, o teste da urease deve ser feito.
   Qual é o resultado mostrado na Figura B?
5. O teste da urease é positivo.
   Qual é o próximo teste?
6. O teste de redução de nitrato é realizado. Ele mostra que a bactéria não produz a enzima nitrato-redutase.
   Qual é a bactéria?
7. *M. bovis* é um patógeno que infecta principalmente o gado. Seus humanos também podem ser infectados, mais frequentemente pelo consumo de produtos de leite não pasteurizado de vacas infectadas. Nos países industrializados, a TB humana causada por *M. bovis* é rara por causa da pasteurização do leite e a eliminação dos rebanhos bovinos infectados. Essa investigação identificou 35 casos de infecção humana por *M. bovis* na Cidade de Nova Iorque. Queijo fresco comprado no México provavelmente tenha sido a fonte da infecção. Nenhuma evidência de transmissão entre humanos foi encontrada. Produtos provenientes de leite de vaca não pasteurizado foram associados com certas doenças infecciosas e causam risco de transmissão de *M. bovis* se importados de países onde a bactéria é comum. Deve-se evitar o consumo de produtos de leite de vaca não pasteurizados.

Micobactéria ácido-álcool resistente
→ Crescimento lento | Crescimento rápido
Crescimento lento → Teste da urease
Teste da urease: + → Teste da nitrato-redutase; – → *M. avium*
Teste da nitrato-redutase: + → *M. tuberculosis*; – → *M. bovis*

Figura A Um esquema de identificação para espécies selecionadas de micobactérias de crescimento lento.

Figura B O teste da urease. Em um teste positivo, a urease bacteriana hidrolisa ureia, produzindo amônia. A amônia eleva o pH, e o indicador no meio se torna avermelhado.

Fonte: Adaptado de *MMWR* 54(24): 605-608, 24 de junho de 2005.

des e púrpuras. As **bactérias verdes**, como *Chlorobium*, utilizam enxofre(s), compostos do enxofre (como sulfeto de hidrogênio, H_2S) ou hidrogênio gasoso (H_2) para reduzir o dióxido de carbono e formar compostos orgânicos. Utilizando a energia da luz e enzimas apropriadas, essas bactérias oxidam sulfeto (S^{2-}) ou enxofre (S) em sulfato (SO_4^{2-}) ou oxidam hidrogênio gasoso em água (H_2O). As **bactérias púrpuras**, como *Chromatium*, também utilizam enxofre, compostos de enxofre ou hidrogênio gasoso para reduzir o dióxido de carbono. Elas se diferenciam das bactérias verdes por seu tipo de clorofila, local de armazenamento de enxofre e RNA ribossômico.

As clorofilas utilizadas por essas bactérias fotossintéticas são chamadas de *bacterioclorofilas,* e elas absorvem a luz em comprimentos de onda superiores àqueles absorvidos pela clorofila *a*. As bacterioclorofilas das bactérias verdes sulfurosas são encontradas em vesículas chamadas de *clorossomos* (ou *vesículas de "chlorobium"*) subjacentes e ligadas à membrana plasmática. Nas bactérias púrpuras sulfurosas, as bacterioclorofilas estão localizadas em invaginações da membrana plasmática (*cromatóforos*).

A **Tabela 5.6** resume várias características que distinguem a fotossíntese eucariótica da fotossíntese procariótica.

Tabela 5.6 Comparação da fotossíntese em eucariotos e procariotos selecionados

Características	Eucariotos	Procariotos		
	Algas, plantas	Cianobactérias	Bactérias verdes	Bactérias púrpuras
Substância que reduz o CO_2	Átomos de H de H_2O	Átomos de H de H_2O	Enxofre, compostos de enxofre, gás H_2	Enxofre, compostos de enxofre, gás H_2
Produção de oxigênio	Oxigênica	Oxigênica (e anoxigênica)	Anoxigênica	Anoxigênica
Tipo de clorofila	Clorofila *a*	Clorofila *a*	Bacterioclorofila *a*	Bacterioclorofila *a* ou *b*
Sitio de fotossíntese	Cloroplasto com tilacoides	Tilacoides	Clorossomos	Cromatóforos
Ambiente	Aeróbico	Aeróbico (e anaeróbico)	Anaeróbico	Anaeróbico

Foto-heterotróficos

Os **foto-heterotróficos** utilizam a luz como fonte de energia, mas não podem converter o dióxido de carbono em açúcar; de fato, eles utilizam como fontes de carbono compostos orgânicos como alcoóis, ácidos graxos, outros ácidos orgânicos e carboidratos. Os foto-heterotróficos são anoxigênicos. As **bactérias verdes não sulfurosas**, tais como *Chloroflexus*, e as **bactérias púrpuras não sulfurosas**, tais como *Rhodopseudomonas*, são foto-heterotróficas.

Quimioautotróficos

Os **quimioautotróficos** utilizam os elétrons de compostos inorgânicos reduzidos como fonte de energia e o CO_2 como sua principal fonte de carbono. Eles fixam o CO_2 no ciclo de Calvin-Benson (veja a Figura 5.26). As fontes inorgânicas de energia desses organismos incluem sulfeto de hidrogênio (H_2S) para *Beggiatoa*; enxofre elementar (S) para *Thiobacillus thiooxidans*; amônia (NH_3) para *Nitrosomonas*; íons nitrito (NO_2^-) para *Nitrobacter*; gás hidrogênio (H_2) para *Hydrogenomonas*; íons ferro (Fe^{2+}) para *Thiobacillus ferrooxidans*; e monóxido de carbono (CO) para *Pseudomonas carboxydohydrogena***.** A energia derivada da oxidação desses compostos inorgânicos é finalmente armazenada como ATP, que é produzido por fosforilação oxidativa.

Quimio-heterotróficos

Quando discutimos fotoautotróficos, foto-heterotróficos e quimioautotróficos foi fácil categorizar a fonte de energia e a fonte de carbono porque elas ocorrem como entidades separadas. Contudo, em quimio-heterotróficos, a distinção não é tão clara porque a fonte de energia e a fonte de carbono geralmente são o mesmo composto orgânico – glicose, por exemplo. Os **quimio-heterotróficos** utilizam especificamente os elétrons do hidrogênio de compostos orgânicos como sua fonte de energia.

Os heterotróficos são melhor classificados de acordo com sua fonte de moléculas orgânicas. Os **saprofíticos** vivem de matéria orgânica morta, e os **parasitas** obtêm os nutrientes de um hospedeiro vivo. A maioria das bactérias e todos os fungos, protozoários e animais são quimio-heterotróficos.

As bactérias e os fungos podem utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos como fontes de carbono e energia. É por essa razão que eles podem viver em diversos ambientes. O conhecimento da diversidade microbiana é cientificamente interessante e economicamente importante. Em algumas situações, o crescimento microbiano é indesejável, como quando bactérias que degradam borracha destroem uma junta de vedação ou uma sola de sapato. Contudo, essas mesmas bactérias podem ser benéficas se elas decompõem produtos de borracha descartados, tais como pneus usados. *Rhodococcus erythropolis* está amplamente distribuído no solo e pode causar doença em humanos e outros animais. Contudo, essa mesma espécie é capaz de substituir átomos de enxofre por átomos de oxigênio no petróleo. Uma empresa do Texas está utilizando atualmente *R. erythropolis* para produzir óleo sem enxofre.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quase todos os micro-organismos importantes em medicina pertencem a qual dos quatro grupos mencionados anteriormente? **5-23**

* * *

A seguir consideraremos como as células utilizam vias de ATP para a síntese de compostos orgânicos como carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos.

Vias metabólicas de uso de energia

OBJETIVO DO APRENDIZADO

5-24 Descrever os principais tipos de anabolismo e sua relação com o catabolismo.

Até agora, consideramos a produção de energia. Pela oxidação de moléculas orgânicas, organismos produzem energia por respiração aeróbica, respiração anaeróbica e fermentação. Grande

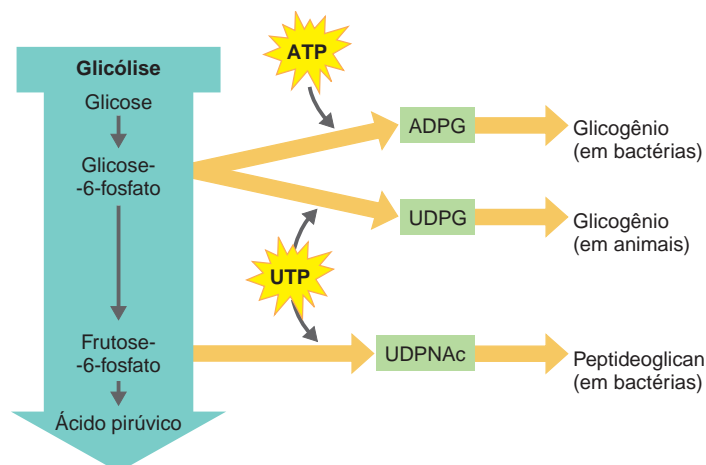



Figura 5.29 **A biossíntese de polissacarídeos.**

P **Como os polissacarídeos são utilizados nas células?**

parte dessa energia é liberada como calor. A oxidação metabólica completa da glicose em dióxido de carbono e água é considerada um processo muito eficiente, mas em torno de 45% da energia da glicose são perdidos como calor. As células utilizam a energia remanescente, que está armazenada nas ligações de ATP, de várias maneiras. Os micro-organismos utilizam ATP para obter energia para o transporte de substâncias através das membranas plasmáticas – o processo chamado de transporte ativo que discutimos no Capítulo 4. Os micro-organismos utilizam também parte de sua energia para o movimento flagelar (também discutido no Capítulo 4). Grande parte da ATP, contudo, é utilizada na produção de novos componentes celulares. Essa produção é um processo contínuo nas células e, em geral, é mais rápido em células procarióticas que em eucarióticas.

Os autotróficos constroem seus compostos orgânicos por fixação do dióxido de carbono no ciclo de Calvin-Benson (veja a Figura 5.26). Isso requer tanto energia (ATP) quanto elétrons (da oxidação de NADPH). Os heterotróficos, ao contrário, devem ter uma fonte rápida de compostos orgânicos para biossíntese – a produção de componentes celulares necessários, geralmente a partir de moléculas mais simples. As células utilizam esses compostos como fonte de carbono e como fonte de energia. A seguir consideraremos a biossíntese de algumas classes representativas das moléculas biológicas: carboidratos, lipídeos, aminoácidos, purinas e pirimidinas. Como nós, tenha em mente que as reações de síntese requerem uma carga de energia.

Biossíntese de polissacarídeos

Os micro-organismos sintetizam açúcares e polissacarídeos. Os átomos de carbono requeridos para sintetizar glicose são derivados de intermediários produzidos durante processos como a glicólise e o ciclo de Krebs, assim como de lipídeos e aminoácidos. Após terem sintetizado glicose (ou outros açúcares simples), as bactérias podem recompô-la em polissacarídeos mais complexos, como o glicogênio. Para as bactérias transformarem glicose em glicogênio, as unidades de glicose devem ser fosforiladas e ligadas. O produto da fosforilação da glicose é a glicose-6-fosfato. Esse processo envolve gasto de energia, geralmente na forma de ATP. Para as bactérias sintetizarem glicogênio, uma molécula de ATP é adicionada à glicose para formar *adenosina-difosfoglicose* (ADPG) (**Figura 5.29**). Uma vez que a ADPG é sintetizada, ela é ligada a unidades similares para formar glicogênio.

Utilizando um nucleotídeo chamado de uridina-trifosfato (UTP) como fonte de energia e glicose-6-fosfato, os animais sintetizam glicogênio (e muitos outros carboidratos) a partir de *uridina-fosfoglicose*, *UDGP* (veja a Figura 5.29). Um composto relacionado com a UDPG, chamado de *UDP-N-acetilglicosamina* (*UDPNAc*), é um material inicial importante na biossíntese de peptideoglicana, a substância que forma as paredes celulares bacterianas. A UDPNAc é formada a partir de frutose-6-fosfato, e a reação também utiliza UTP.

Biossíntese de lipídeos

Como os lipídeos variam consideravelmente em composição química, eles são sintetizados por diversas rotas. As células sintetizam gordura pela ligação de glicerol a ácidos graxos. A porção glicerol da gordura é derivada da diidroxiacetona-fosfato, um intermediário formado durante a glicólise. Os ácidos graxos, que são hidrocarbonetos de cadeia longa (hidrogênio ligado a carbono), são construídos quando fragmentos de dois carbonos de acetil-CoA são sucessivamente adicionados uns aos outros (**Figura 5.30**). Como cocorre na síntese de polissacarídeos, as unidades construtivas das gorduras e de outros lipídeos são ligadas por reações de síntese por desidratação que requerem energia, nem sempre na forma de ATP.

O principal papel dos lipídeos é servir como componentes estruturais das membranas biológicas, e a maioria dos lipídeos de membrana é fosfolipídeo. Um lipídeo de estrutura muito diferente, o colesterol, também é encontrado nas membranas citoplasmáticas das células eucarióticas. As ceras são lipídeos que são componentes importantes da parede celular da bactérias ácido-álcool resistentes. Outros lipídeos, como os carotenoides, fornecem os pigmentos vermelhos, alaranjados e amarelos de alguns micro-organismos. Alguns lipídeos formam porções das moléculas de clorofila. Os lipídeos também funcionam como estoque de energia. Recorde-se de que os produtos da quebra de lipídeos após oxidação biológica suprem o ciclo de Krebs.

Biossíntese de aminoácidos e proteínas

Os aminoácidos são necessários para a biossíntese de proteínas. Alguns micro-organismos, como *E. coli*, contêm as enzimas necessárias para usar material inicial, como glicose e sais inorgânicos, para a síntese de todos os aminoácidos de que precisam. Organismos com as enzimas necessárias podem sintetizar todos os aminoácidos direta ou indiretamente a partir de intermediários

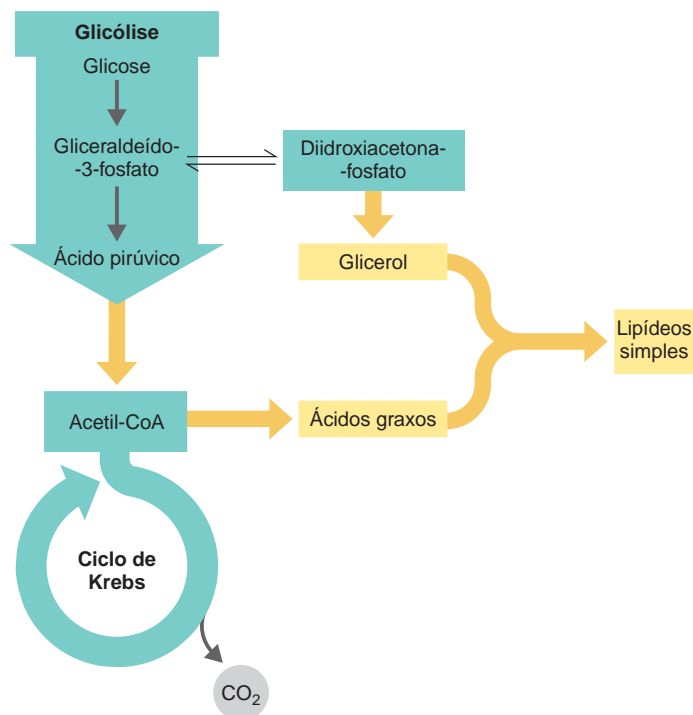



Figura 5.30 **A biossíntese de lipídeos simples.**

P **Qual é a principal utilização dos lipídeos nas células?**

do metabolismo de carboidratos (**Figura 5.31a**). Outros micro-organismos requerem que o ambiente forneça alguns aminoácidos pré-formados.

Uma fonte importante de *precursores* (intermediários) utilizados para a síntese de aminoácidos é o ciclo de Krebs. A adição de um grupo amino ao ácido pirúvico ou a um ácido orgânico apropriado do ciclo de Krebs converte o ácido em um aminoácido. Esse processo é chamado de **aminação**. Se o grupo amino é derivado de um aminoácido preexistente, o processo é chamado de **transaminação** (**Figura 5.31b**).

A maioria dos aminoácidos dentro das células é destinada a servir como bloco de construção para a síntese proteica. As proteínas possuem papéis importantes na célula como enzimas, componentes estruturais e toxinas, citando apenas algumas utilizações. A ligação de aminoácidos para formar proteínas envolve a síntese por desidratação e requer energia na forma de ATP. O mecanismo de síntese de proteínas envolve genes e é discutido no Capítulo 8.

Biossíntese de purinas e pirimidinas

Como apresentado no Capítulo 2, as moléculas informacionais de DNA e RNA consistem em unidades repetitivas chamadas de nucleotídeos, cada uma consistindo de uma purina ou pirimidina, uma pentose (açúcar de cinco carbonos) e um grupo fosfato. Os açúcares de cinco carbonos dos nucleotídeos são derivados da via da pentose-fosfato e da via de Entner-Doudoroff. Alguns aminoácidos – ácido aspártico, glicina e glutamina – feitos a partir de intermediários produzidos durante a glicólise e no ciclo de Krebs participam da biossíntese de purinas e pirimidinas (**Figura 5.32**). Os átomos de carbono e nitrogênio derivados desses aminoácidos formam os anéis de purina e pirimidina, e a energia para a síntese é fornecida pelo ATP. O DNA contém todas as informações necessárias para determinar as estruturas e as funções específicas das células. Tanto o DNA quanto o RNA são requeridos para a síntese de proteínas. Além disso, nucleotídeos como ATP, NAD^+ e $NADP^+$ assumem papéis estimulando e inibindo a velocidade do metabolismo celular. A síntese de DNA e RNA a partir de nucleotídeos será discutida no Capítulo 8.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ De onde vêm os aminoácidos requeridos para a síntese de proteínas? **5-24**

A integração do metabolismo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

5.25 Definir *vias anfibólicas.*

Vimos que os processos metabólicos dos micro-organismos produzem energia a partir de luz, compostos inorgânicos e compostos orgânicos. Também ocorrem reações nas quais a energia é utilizada para a biossíntese. Com tantos tipos de atividade, você pode imaginar que as reações anabólicas e catabólicas ocorrem independentemente umas das outras no espaço e no tempo. Na realidade, essas reações estão unidas por um grupo de intermediários comuns (identificados como intermediários essenciais na **Figura 5.33**). As reações anabólicas e catabólicas também compartilham algumas vias metabólicas, como o ciclo de Krebs. Por exemplo, as reações no ciclo de Krebs não somente participam da oxidação da glicose, como também produzem intermediários que podem ser convertidos em aminoácidos. As vias metabólicas que funcionam no anabolismo e no catabolismo são chamadas de **vias anfibólicas**, significando que têm duas finalidades.

As vias anfibólicas ligam as reações que levam à quebra e à síntese de carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Essas vias permitem que reações simultâneas ocorram, e o produto da quebra formado em uma reação é utilizado em outra reação para sintetizar um composto diferente, e vice-versa. Como vários intermediários são comuns para as reações anabólicas e catabólicas, existem mecanismos que regulam as vias de síntese e degradação e permitem que essas reações ocorram simultaneamente. Um desses mecanismos envolve a utilização de diferentes coenzimas para vias opostas. Por exemplo, NAD^+ está envolvida nas reações catabólicas, enquanto $NADP^+$ é envolvida nas reações anabólicas. As enzimas também podem coordenar as reações anabólicas e catabólicas acelerando ou inibindo as velocidades das reações bioquímicas.

Figura 5.31 A biossíntese de aminoácidos. **(a)** Vias de biossíntese de aminoácidos por aminação ou transaminação de intermediários do metabolismo de carboidratos a partir do ciclo de Krebs, da via da pentose-fosfato e da via de Entner-Doudoroff. **(b)** Transaminação, um processo pelo qual novos aminoácidos são produzidos com os grupos amino de aminoácidos velhos. O ácido glutâmico e o ácido aspártico são aminoácidos; os outros dois componentes são intermediários do ciclo de Krebs.

P Qual é a função dos aminoácidos nas células?

(a) Biossíntese de aminoácidos

(b) Processo de transaminação

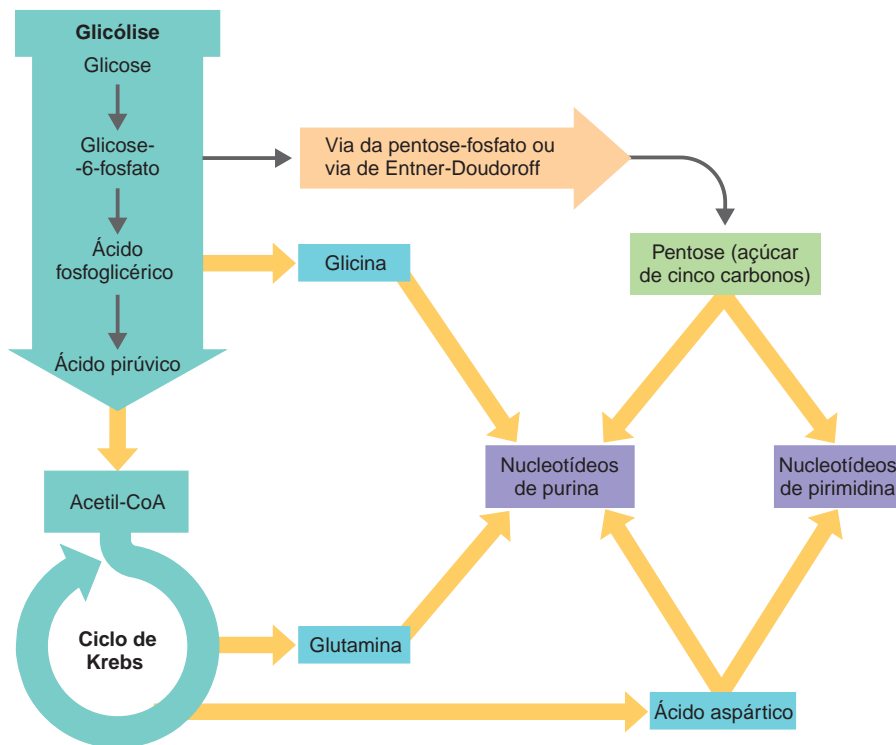
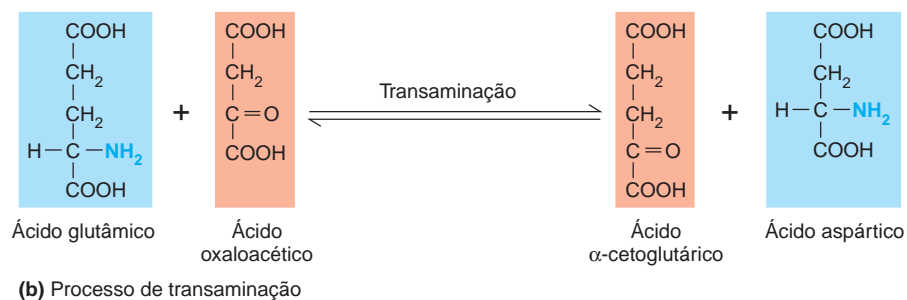
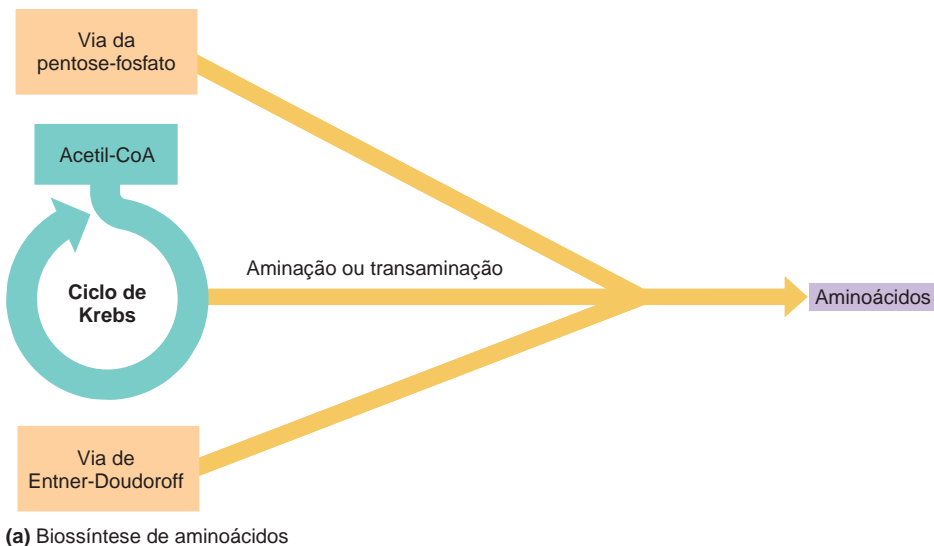



Figura 5.32 A biossíntese de nucleotídeos de purina e pirimidina.

P Qual é a função dos nucleotídeos nas células?

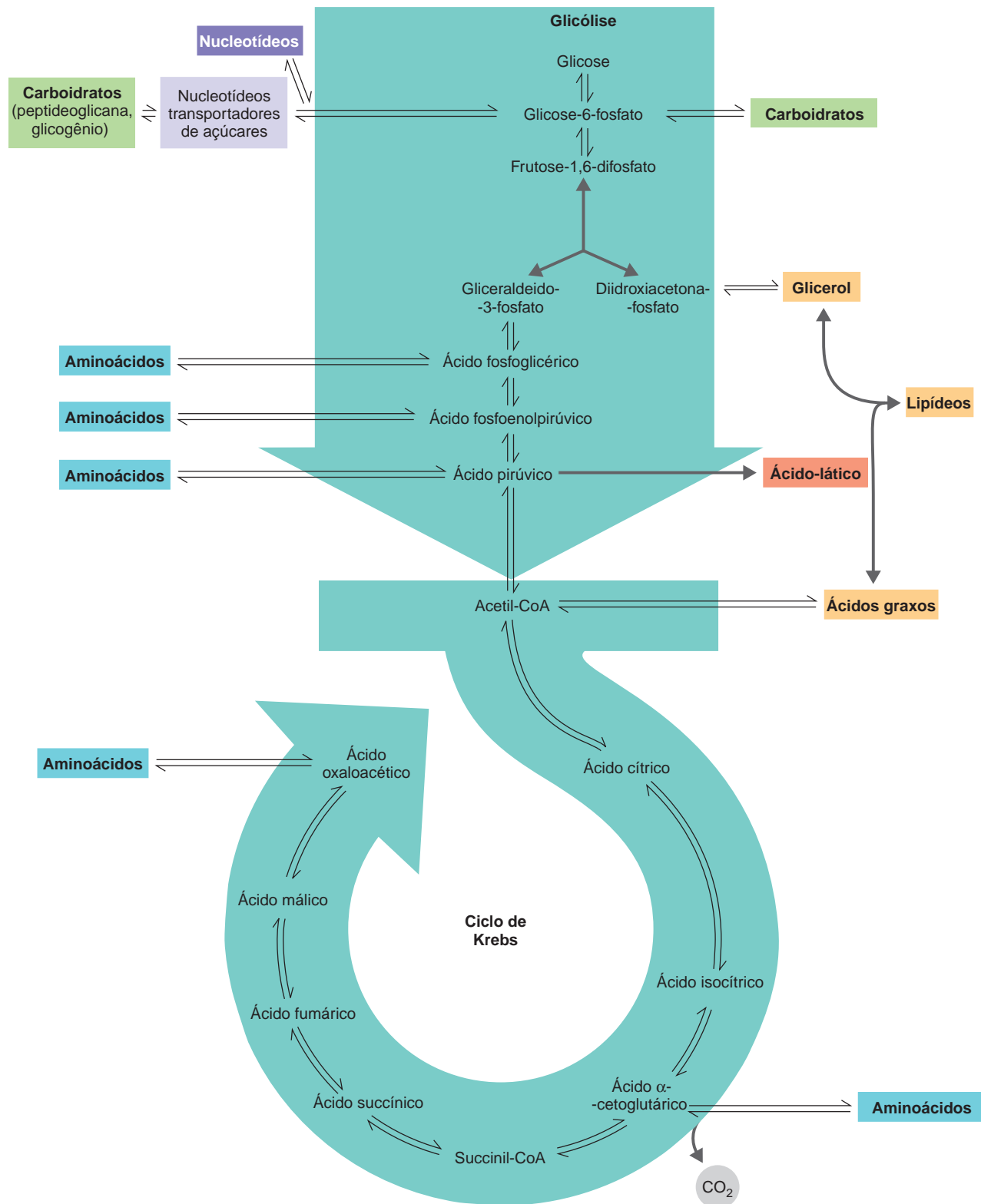



Figura 5.33 A integração do metabolismo. Os intermediários essenciais são mostrados. Embora não indicados na figura, os aminoácidos e a ribose são utilizados para a síntese de nucleotídeos de purina e pirimidina (veja a Figura 5.32). As setas duplas indicam vias anfibólicas.

P O que é uma via anfibólica?

Os estoques de energia de uma célula também podem afetar as velocidades das reações bioquímicas. Por exemplo, se o ATP começa a se acumular, uma enzima bloqueia a glicólise; esse controle ajuda a sincronizar as velocidades da glicólise e do ciclo de Krebs. Portanto, se o consumo de ácido cítrico aumenta, por causa de uma demanda maior por ATP ou porque vias anabólicas drenam os intermediários do ciclo do ácido cítrico, a glicólise acelera e atende a demanda.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Resuma a integração das vias metabólicas utilizando a síntese de peptideoglicana como exemplo. **5-25**

RESUMO PARA ESTUDO

Reações catabólicas e anabólicas (p.114)

1. A soma de todas as reações químicas dentro de um organismo vivo é conhecida como metabolismo.
2. Catabolismo se refere às reações químicas que resultam na quebra de moléculas orgânicas complexas em substâncias mais simples. As reações catabólicas liberam energia.
3. Anabolismo se refere às reações químicas nas quais substâncias mais simples são combinadas para formar moléculas mais complexas. As reações anabólicas geralmente requerem energia.
4. A energia das reações catabólicas é utilizada para conduzir as reações anabólicas.
5. A energia para as reações químicas é armazenada em ATP.

Enzimas (p. 115-121)

1. As enzimas são proteínas, produzidas por células vivas, que catalisam reações químicas pela diminuição da energia de ativação.
2. As enzimas geralmente são proteínas globulares com configurações tridimensionais características.
3. As enzimas são eficientes, podem atuar a temperaturas relativamente baixas e são sujeitas a vários controles celulares.

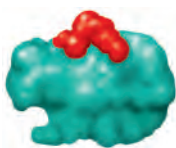
Nomenclatura das enzimas (p. 116)

4. Os nomes das enzimas em geral terminam em *–ase*.
5. As seis classes de enzimas são definidas com base nos tipos de reações que elas catalisam.

Componentes das enzimas (p. 116, 117)

6. Em sua maioria, as enzimas são holoenzimas, consistindo de uma porção proteica (apoenzima) e uma porção não proteica (cofator).
7. O cofator pode ser um íon metálico (ferro, cobre, magnésio, manganês, zinco, cálcio ou cobalto) ou uma molécula orgânica complexa conhecida como coenzima (NAD^+, $NADP^+$, FMN, FAD ou coenzima A).

O mecanismo da ação enzimática (p. 117, 118)

8. Quando uma enzima e um substrato se combinam, o substrato é transformado e a enzima é recuperada.
9. As enzimas são caracterizadas pela especificidade, que é uma função dos seus sítios ativos.

Fatores que influenciam a atividade enzimática (p. 118-120)

10. Em altas temperaturas, as enzimas sofrem desnaturação e perdem suas propriedades catalíticas; em baixas temperaturas, a velocidade da reação diminui.
11. O pH no qual a atividade enzimática é máxima é conhecido como pH ótimo.
12. A atividade enzimática aumenta à medida que a concentração do substrato se eleva até as enzimas ficarem saturadas.
13. Os inibidores competitivos competem com o substrato normal pelo sítio ativo da enzima. Os inibidores não competitivos atuam em outra parte da apoenzima ou no cofator, diminuindo a capacidade da enzima de se combinar com o substrato normal.

Inibição por retroalimentação (p. 120, 121)

14. A inibição por retroalimentação ocorre quando o produto final de uma via metabólica inibe uma atividade enzimática quase no início da via.

Ribozimas (p. 121)

15. As ribozimas são moléculas enzimáticas de RNA que cortam e religam o RNA nas células eucarióticas.

Produção de energia (p. 121-123)

Reações de oxidação-redução (p. 121, 122)

1. Oxidação é a remoção de um ou mais elétrons de um substrato. Os prótons (H^+) frequentemente são removidos com os elétrons.
2. A redução de um substrato se refere ao ganho de um ou mais elétrons.
3. Cada vez que uma substância é oxidada, outra é simultaneamente reduzida.

4. NAD^+ é a forma oxidada; NADH é a forma reduzida.
5. A glicose é uma molécula reduzida; a energia é liberada durante a oxidação da glicose na célula.

A geração de ATP (p. 122, 123)

6. A energia liberada durante certas reações metabólicas pode ser captada para formar ATP a partir de ADP e P (fosfato). A adição de um P a uma molécula é chamada de fosforilação.
7. Durante a fosforilação em nível de substrato, um P de alta energia de um intermediário do catabolismo é adicionado ao ATP.
8. Durante a fosforilação oxidativa, energia é liberada à medida que elétrons passam por uma série de aceptores de elétrons (uma cadeia de transporte de elétrons) e finalmente ao O_2 ou outro composto inorgânico.
9. Durante a fotofosforilação, a energia da luz é captada pela clorofila, e elétrons passam por uma série de aceptores de elétrons. A transferência de elétrons libera a energia utilizada para a síntese de ATP.

Vias metabólicas de produção de energia (p. 123)

10. Uma série de reações químicas catalisadas enzimaticamente chamada de via metabólica armazena e libera energia em moléculas orgânicas.

Catabolismo de carboidratos (p. 123-135)

1. A maior parte da energia celular é produzida pela oxidação de carboidratos.
2. A glicose é o carboidrato mais comumente utilizado.
3. Os dois principais tipos de catabolismo da glicose são a respiração, na qual a glicose é completamente degradada, e a fermentação, na qual ela é parcialmente degradada.

Glicólise (p. 124)

4. A via mais comum para a oxidação da glicose é a glicólise. O ácido pirúvico é o produto final.
5. Duas moléculas de ATP e duas de NADH são produzidas a partir de uma molécula de glicose.

Alternativas à glicólise (p. 125, 127)

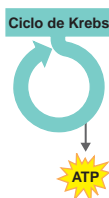
6. A via da pentose-fosfato é utilizada para metabolizar açúcares de cinco carbonos; um ATP e 12 moléculas de NADPH são produzidos a partir de uma molécula de glicose.
7. A via de Entner-Doudoroff produz uma molécula de ATP e duas de NADPH a partir de uma molécula de glicose.

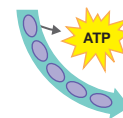
Respiração celular (p. 127-132)

8. Durante a respiração, moléculas orgânicas são oxidadas. Energia é gerada a partir da cadeia de transporte de elétrons.
9. Na respiração aeróbica, O_2 funciona como aceptor final de elétrons.
10. Na respiração anaeróbica, o aceptor final de elétrons normalmente é uma molécula inorgânica que não o O_2.

Respiração aeróbica (p. 127-132)

O Ciclo de Krebs (p. 127, 128)

11. A descarboxilação do ácido pirúvico produz uma molécula de CO_2 e um grupo acetil.
12. Grupos acetil de dois carbonos são oxidados no ciclo de Krebs. Os elétrons são captados por NAD^+ e FAD para a cadeia de transporte de elétrons.
13. A partir de uma molécula de glicose, a oxidação produz seis moléculas de NADH, duas moléculas de $FADH_2$ e duas moléculas de ATP.
14. A descarboxilação produz seis moléculas de CO_2.

A cadeia de transporte de elétrons (Sistema) (p. 129, 130)

15. Os elétrons são conduzidos à cadeia de transporte de elétrons pela NADH.
16. A cadeia de transporte de elétrons consiste em carreadores, incluindo flavoproteínas, citocromos e ubiquinonas.

O mecanismo quimiosmótico de geração de ATP (p. 130, 131)

17. Ao serem bombeados através da membrana, os prótons geram uma força próton motiva enquanto os elétrons passam por uma série de aceptores ou carreadores.
18. A energia produzida pelo movimento de volta dos prótons através da membrana é utilizada pela ATP-sintase para formar ATP a partir de ADP e P.
19. Em eucariotos, os carreadores de elétrons estão localizados na membrana mitocondrial interna; em procariotos, os carreadores estão na membrana plasmática.

Um resumo da respiração aeróbica (p. 131, 132)

20. Nos procariotos aeróbicos, 38 moléculas de ATP podem ser produzidas a partir da oxidação completa de uma molécula de glicose na glicólise, no ciclo de Krebs e na cadeia de transporte de elétrons.
21. Nos eucariotos, 36 moléculas de ATP são produzidas a partir da oxidação completa de uma molécula de glicose.

Respiração anaeróbica (p. 132)

22. Os aceptores finais de elétrons na respiração anaeróbica incluem NO_3^-, SO_4^{2-} e CO_3^{2-}.
23. O rendimento total de ATP é menor que na respiração aeróbica porque somente uma parte do ciclo de Krebs funciona sob condições anaeróbicas.

Fermentação (p. 132-135)

24. A fermentação libera energia a partir de açúcares e outras moléculas orgânicas por oxidação.
25. O_2 não é requerido na fermentação.
26. Duas moléculas de ATP são produzidas por fosforilação em nível de substrato.
27. Os elétrons removidos do substrato reduzem NAD^+.
28. O aceptor final de elétrons é uma molécula orgânica.
29. Na fermentação do ácido lático, o ácido pirúvico é reduzido pela NADH a ácido lático.
30. Na fermentação alcoólica, o acetaldeído é reduzido pela NADH para produzir etanol.
31. Fermentadores heteroláticos podem utilizar a via da pentose-fosfato para produzir ácido lático e etanol.

Catabolismo dos lipídeos e das proteínas (p. 136, 137)

1. As lipases hidrolisam os lipídeos em glicerol e ácidos graxos.
2. Os ácidos graxos e outros hidrocarbonetos são catabolizados por β–-oxidação.
3. Os produtos catabólicos podem ser posteriormente quebrados na glicólise e no ciclo de Krebs.
4. Antes de poderem ser catabolizados, os aminoácidos devem ser convertidos em diversas substâncias que entram no ciclo de Krebs.

5. As reações de transaminação, descarboxilação e desidrogenação convertem os aminoácidos para serem catabolizados.

Testes bioquímicos e identificação bacteriana (p. 137-139)

1. Bactérias e leveduras podem ser identificadas pela detecção da ação de suas enzimas.
2. Testes de fermentação são utilizados para determinar se um organismo pode fermentar um carboidrato para produzir ácido e gás.

Fotossíntese (p. 140)

1. Fotossíntese é a conversão da energia luminosa do sol em energia química; a energia química é utilizada para a fixação de carbono.

As reações dependentes de luz: fotofosforilação (p. 140)

2. A clorofila *a* é utilizada por plantas verdes, algas e cianobactérias; ela é encontrada nas membranas tilacoides.
3. Elétrons da clorofila passam por uma cadeia de transporte de elétrons, a partir do que ATP é produzido por quimiosmose.
4. Na fotofosforilação cíclica, os elétrons retornam para a clorofila.
5. Na fotofosforilação acíclica, os elétrons são utilizados para reduzir $NADP^+$. Os elétrons de H_2O e H_2S substituem aqueles perdidos pela clorofila.
6. Quando H_2O é oxidada por plantas verdes, algas e cianobactérias, O_2 é produzido; quando H_2S é oxidado pelas bactérias sulfurosas, grânulos de enxofre são produzidos.

As reações independentes de luz: o ciclo de Calvin-Benson (p. 140)

7. CO_2 é utilizado para sintetizar açúcares no ciclo de Benson-Calvin.

Um resumo dos mecanismos de produção de energia (p. 141)

1. A luz solar é convertida em energia química em reações de oxidação-redução realizadas por fototróficos. Os quimiotróficos podem utilizar essa energia química.
2. Nas reações de oxidação-redução, a energia é derivada da transferência de elétrons.
3. Para produzir energia, a célula precisa de um doador de elétrons (orgânico ou inorgânico), um sistema de carreadores de elétrons e um aceptor final de elétrons (orgânico ou inorgânico).

Diversidade metabólica entre os organismos (p. 142-145)

1. Os fotoautotróficos obtêm energia por fotofosforilação e fixam o carbono do CO_2 pelo ciclo de Calvin-Benson para sintetizar compostos orgânicos.
2. As cianobactérias são fototróficos oxigênicos. As bactérias verdes e as bactérias púrpuras são fototróficos anoxigênicos.
3. Os foto-heterotróficos utilizam a luz como fonte de energia e um composto orgânico como fonte de carbono e doador de elétrons.
4. Os quimioautotróficos utilizam compostos inorgânicos como fonte de energia e o dióxido de carbono como fonte de carbono.
5. Os quimio-heterotróficos utilizam moléculas orgânicas complexas como suas fontes de carbono e energia.

Vias metabólicas de uso de energia

(p. 145-147)

Biossíntese de polissacarídeos (p. 146)

1. O glicogênio é formado a partir de ADPG.
2. UDPNAc é o material inicial para a biossíntese de peptideoglicana.

Biossíntese de lipídeos (p. 146)

3. Os lipídeos são sintetizados a partir de glicerol e ácidos graxos.
4. O glicerol é derivado da diidroxiacetona-fosfato e os ácidos graxos são construídos a partir de acetil-CoA.

Biossíntese de aminoácidos e proteínas (p. 146-147)

5. Os aminoácidos são requeridos para a síntese de proteínas.
6. Todos os aminoácidos podem ser sintetizados direta ou indiretamente a partir de intermediários do metabolismo de carboidratos, particularmente a partir do ciclo de Krebs.

Biossíntese de purinas e pirimidinas (p. 147)

7. Os açúcares que compõem os nucleotídeos são derivados da via da pentose-fosfato ou da via de Entner-Doudoroff.
8. Os átomos de carbono e nitrogênio de certos aminoácidos formam o esqueleto de purinas e pirimidinas.

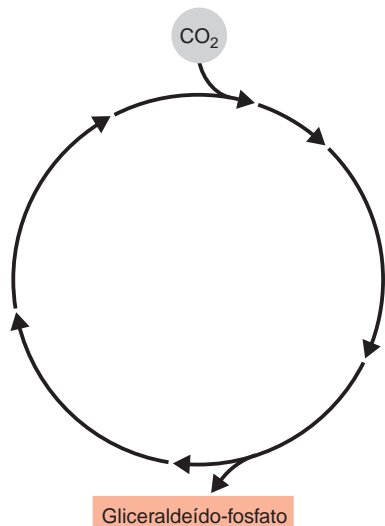
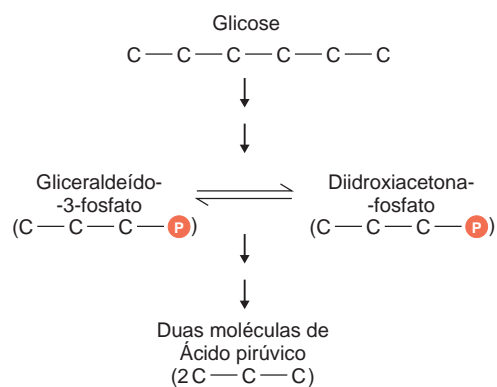
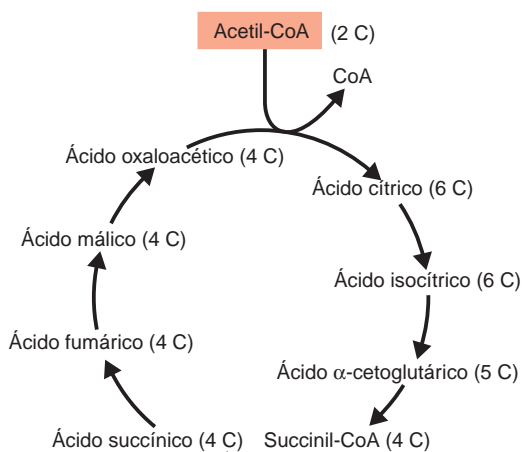
A integração do metabolismo (p. 147, 149, 150)

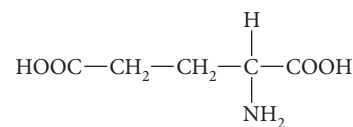
1. As reações anabólicas e catabólicas são integradas por um grupo de intermediários comuns.
2. Tais vias metabólicas integradas são referidas como vias anfibólicas.

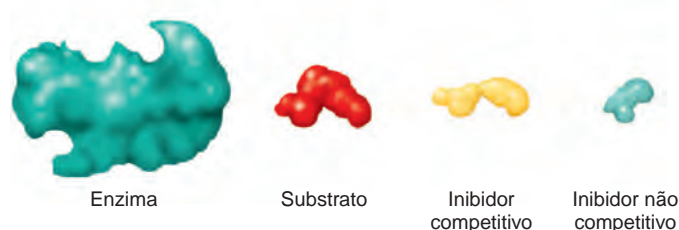
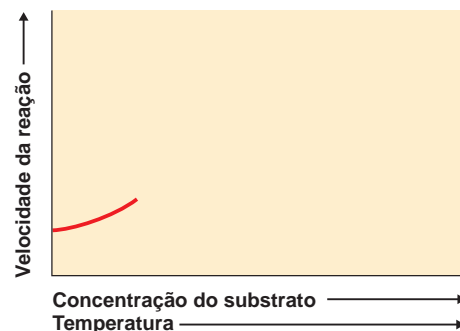
QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

Utilize os diagramas a, b e c abaixo para a questão 1.

1. Denomine as vias diagramadas em a, b e c na figura a lado.
   a. Mostre onde o glicerol é catabolizado e onde os ácidos graxos são catabolizados.
   b. Mostre onde o ácido glutâmico é catabolizado.

$$HOOC—CH_2—CH_2—\underset{NH_2}{\overset{H}{C}}—COOH$$

   c. Mostre como essas vias estão relacionadas.
   d. Onde o ATP é requerido nas vias a e b?
   e. Onde o CO_2 é liberado nas vias b e c?
   f. Mostre onde um hidrocarboneto de cadeia longa como o petróleo é catabolizado.
   g. Onde NADH (ou $FADH_2$ ou NADPH) é utilizada ou produzida nessas vias?
   h. Identifique quatros locais onde as vias anabólicas e catabólicas estão integradas.

2. **DESENHE** Utilizando os diagramas a seguir, mostre:
   a. Onde o substrato irá se ligar?
   b. Onde o inibidor competitivo irá se ligar?
   c. Onde o inibidor não competitivo irá se ligar?
   d. Qual dos quatro elementos pode ser o inibidor na inibição por retroalimentação?

3. **DESENHE** Uma enzima e um substrato são combinados. A velocidade da reação inicia como mostrado no gráfico seguinte. Para completar o gráfico, mostre o efeito do aumento da concentração do substrato em uma concentração constante da enzima. Mostre o efeito do aumento da temperatura.

4. Defina oxidação-redução e diferencie os seguintes termos:
   a. Respiração aeróbica e anaeróbica.
   b. Respiração e fermentação.
   c. Fotofosforilação cíclica e acíclica.

5. Há três mecanismos para a fosforilação de ADP para produzir ATP. Escreva o nome do mecanismo que descreve cada uma das reações na seguinte tabela.

ATP gerado por	Reação
a. ________________	Um elétron, liberado a partir da clorofila pela luz, é passado através uma cadeia de transporte de elétrons.
b. ________________	O citocromo *c* passa dois elétrons para o citocromo *a*.
c. ________________	$CH_2{=}C(COOH){-}O{\sim}P \rightarrow CH_3{-}C({=}O){-}COOH$ (Ácido fosfoenolpirúvico → Ácido pirúvico)

6. Todas as reações bioquímicas produtoras de energia que ocorrem na célula, como a fotofosforilação e a glicólise, são reações ______.
7. Preencha na tabela seguinte a fonte de carbono e a fonte de energia para cada tipo de organismo.

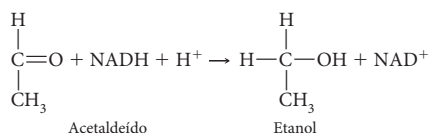
Organismo	Fonte de carbono	Fonte de energia
Fotoautotrófico	a. ____________	b. ____________
Foto-heretotrófico	c. ____________	d. ____________
Quimioautotrófico	e. ____________	f. ____________
Quimio-heterotrófico	g. ____________	h. ____________

8. Escreva sua própria definição do mecanismo de quimiosmose para a geração de ATP. Na Figura 5.16, indique o seguinte utilizando a letra apropriada:
   a. O lado ácido da membrana.
   b. O lado com uma carga elétrica positiva.
   c. Energia potencial.
   d. Energia cinética.
9. Por que NADH deve ser reoxidada? Como isso ocorre em organismos que utilizam a respiração e a fermentação?

Múltipla escolha

1. Qual substância está sendo reduzida na reação seguinte?

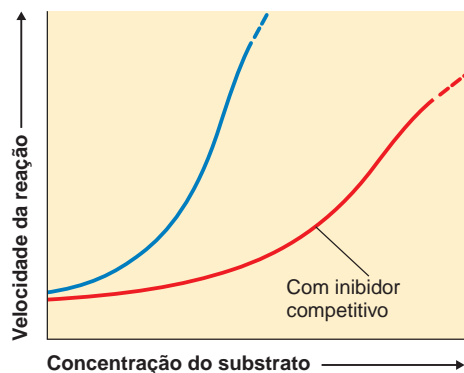
$$CH_3{-}CH{=}O + NADH + H^+ \rightarrow CH_3{-}CH_2{-}OH + NAD^+$$

Acetaldeído → Etanol

   a. Acetaldeído.
   b. NADH.
   c. Etanol.
   d. NAD^+.
2. Qual das reações seguintes produz mais moléculas de ATP durante o metabolismo aeróbico?
   a. Glicose → glicose-6-fosfato.
   b. Ácido fosfoenolpirúvico → ácido pirúvico.
   c. Glicose → ácido pirúvico.
   d. Acetil-CoA → CO_2 + H_2O.
   e. Ácido succínico → ácido fumárico.
3. Qual dos seguintes processos não gera ATP?
   a. Fotofosforilação.
   b. Ciclo de Calvin-Benson.
   c. Fosforilação oxidativa.
   d. Fosforilação em nível de substrato.
   e. Nenhuma das alternativas.
4. Qual dos seguintes compostos tem a maior quantidade de energia para a célula?
   a. CO_2.
   b. ATP.
   c. Glicose.
   d. O_2.
   e. Ácido lático.
5. Qual das seguintes é a melhor definição de ciclo de Krebs?
   a. A oxidação do ácido pirúvico.
   b. A via que produz CO_2 para as células.
   c. Uma série de reações nas quais NADH é produzida a partir da oxidação do ácido pirúvico.
   d. Um método de produzir ATP por fosforilação do ADP.
   e. Uma série de reações químicas nas quais o ATP é produzido a partir da oxidação do ácido pirúvico.
6. Qual das seguintes é a melhor definição de respiração?
   a. Uma sequência de moléculas carreadoras com o O_2 como aceptor final de elétrons.
   b. Uma sequência de moléculas carreadoras com uma molécula inorgânica como aceptor final de elétrons.
   c. Um método de geração de ATP.
   d. A oxidação completa da glicose em CO_2 e H_2O.
   e. Uma série de reações nas quais o ácido pirúvico é oxidado em CO_2 e H_2O.

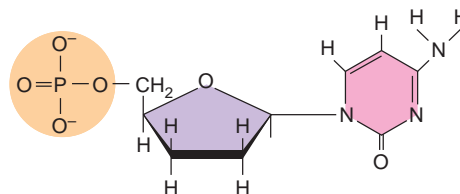
Utilize as seguintes alternativas para responder as questões 7 a 10.
   a. *E. coli* crescendo em um caldo glicose a 35°C com O_2 durante 5 dias.
   b. *E. coli* crescendo em um caldo glicose a 35°C sem O_2 durante 5 dias.
   c. Ambas a e b.
   d. Nem a nem b.

7. Qual cultura produz mais ácido lático?
8. Qual cultura produz mais ATP?
9. Qual cultura utiliza NAD^+?
10. Qual cultura utiliza mais glicose?

Pensamento crítico

1. Explique por que, mesmo sob condições ideais, *Streptococcus* cresce lentamente?
2. O gráfico a seguir mostra a velocidade normal da reação de uma enzima e seu substrato (azul) e a velocidade quando há um excesso de inibidor competitivo (vermelho). Explique por que o gráfico aparece assim.

3. Compare e contraste catabolismo de carboidratos e produção de energia nas seguintes bactérias:
   a. *Pseudomonas*, um quimio-heterotrófico aeróbico.
   b. *Spirulina*, um fotoautotrófico oxigênico.
   c. *Ectothiorhodospira*, um fotoautotrófico anoxigênico.
4. Quando ATP pode ser obtido da oxidação completa de uma molécula de glicose? De uma molécula de gordura de manteiga contendo um glicerol e três cadeias de 12 carbonos?
5. O *Thiobacillus* quimioautotrófico pode obter energia a partir da oxidação do arsênico (As^{3+} As^{5+}). Como essa reação fornece energia? Como essa bactéria pode ser utilizada pelos seres humanos?

Aplicações clínicas

1. *Haemophilus influenzae* requer hemina (fator X) para sintetizar citocromos e NAD^+ (fator V) a partir de outras células. Para que ele utiliza esses dois fatores de crescimento? Quais doenças *H. influenzae* causa?
2. A droga HIVID, também chamada de ddC, inibe a síntese de DNA. Ela é utilizada para tratar infecção pelo HIV e Aids. Compare a ilustração seguinte do ddC com a Figura 2.16 na página 48. Como essa droga funciona?

3. A enzima bacteriana estreptoquinase é utilizada para digerir fibrina (coágulo sanguíneo) em pacientes com aterosclerose. Por que a injeção de estreptoquinase não provoca uma infecção estreptocócica? Como sabemos que a estreptoquinase irá digerir somente a fibrina e não tecidos normais?

6 Crescimento Microbiano

Quando falamos em crescimento microbiano, estamos nos referindo ao número de células, não ao tamanho delas. Os micro-organismos que crescem estão aumentando em número e se acumulando em colônias (grupos de células que podem ser visualizados sem a utilização se um microscópio) de centenas ou milhares de células ou populações de bilhões de células. Apesar de cada célula poder dobrar de tamanho, essa mudança não é muito significativa em comparação com o aumento de tamanho durante o desenvolvimento das plantas e dos animais.

As populações microbianas podem ficar muito grandes em um espaço de tempo muito curto, como veremos mais tarde neste capítulo. Entendendo as condições necessárias para o crescimento microbiano, podemos determinar como controlar o crescimento dos micro-organismos que causam doenças ou deterioração de alimentos. Podemos também aprender como estimular o crescimento de micro-organismos benéficos e aqueles que queremos estudar.

Neste capítulo, examinaremos os fatores físicos e químicos para o crescimento microbiano, os vários tipos de meios de cultura, a divisão da célula bacteriana, as fases de crescimento e os métodos utilizados para determinar o crescimento microbiano.

SOB O MICROSCÓPIO

Escherichia coli. E. coli, um habitante comum do intestino humano, pode viver com ou sem oxigênio.

P&R

O oxigênio na atmosfera é essencial para a vida humana. Como algumas bactérias podem crescer sem oxigênio?

Procure pela resposta neste capítulo.

Fatores necessários para o crescimento

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

6-1 Classificar os micro-organismos em cinco grupos com base na faixa de temperatura ótima.

6-2 Identificar como e por que o pH dos meios de cultura é controlado.

6-3 Explicar a importância da pressão osmótica para o crescimento microbiano.

6-4 Indicar uma utilização para cada um dos quatro elementos (carbono, nitrogênio, enxofre e fósforo) necessários em grandes quantidades para o crescimento microbiano.

6-5 Explicar como os micro-organismos são classificados com base em suas necessidades de oxigênio.

6-6 Identificar os mecanismos utilizados pelos anaeróbicos para evitar os efeitos tóxicos das formas de oxigênio.

Os fatores necessários para o crescimento microbiano podem ser divididos em duas categorias principais: físicos e químicos. Os fatores físicos incluem temperatura, pH e pressão osmótica. Os fatores químicos incluem fontes de carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo, oxigênio, elementos traços e fatores orgânicos de crescimento.

Fatores físicos

Temperatura

A maioria dos micro-organismos cresce bem nas temperaturas ideais para os seres humanos. Contudo, certas bactérias são capazes de crescer em extremos de temperatura que certamente impediriam a sobrevivência de quase todos os organismos eucarióticos.

Os micro-organismos são classificados em três grupos principais com base em sua faixa preferida de temperatura: em **psicrófilos** (crescem em baixas temperaturas), **mesófilos** (crescem em temperaturas moderadas) e **termófilos** (crescem em altas temperaturas). A maioria das bactérias cresce em uma faixa limitada de temperatura, sendo que há somente 30ºC de diferença entre a temperatura máxima e a mínima de crescimento. Elas crescem pouco nas temperaturas extremas considerando sua faixa ideal.

Cada espécie bacteriana cresce a uma temperatura mínima, ótima e máxima específica. A **temperatura mínima de crescimento** é a menor temperatura na qual a espécie pode crescer. A **temperatura ótima de crescimento** é a temperatura na qual a espécie cresce melhor. A **temperatura máxima de crescimento** é a maior temperatura na qual o crescimento é possível. Quando é feito um gráfico relacionando a resposta do crescimento com a variação da temperatura, pode-se observar que a temperatura ótima de crescimento normalmente está deslocada para perto da variação máxima de temperatura; acima dessa temperatura, a velocidade de crescimento decresce rapidamente (**Figura 6.1**). Isso ocorre provavelmente porque a temperatura elevada inativou os sistemas enzimáticos da célula.

As faixas e as temperaturas máximas de crescimento que definem as bactérias como psicrófilos, mesófilos ou termófilos não estão determinadas de maneira rígida. Os psicrófilos, por exemplo, foram inicialmente considerados micro-organismos capazes de crescer a 0°C. Contudo, existem dois grupos diferentes capazes, de crescer nessa temperatura. Um grupo, composto somente por psicrófilos, pode crescer a 0°C, mas tem uma temperatura ótima de crescimento de cerca de 15°C. A maioria desses micro-organismos é tão sensível a temperaturas mais altas que não poderá crescer mesmo em uma temperatura ambiente razoável (25°C). Encontrados essencialmente nas profundezas dos oceanos ou em certas regiões polares, esses micro-organismos não causam problemas na preservação de alimentos. O outro grupo que pode crescer a 0°C tem temperaturas ótimas de crescimento mais elevadas, geralmente de 20 a 30°C, e não pode crescer em temperaturas acima de de 40°C. Os organismos desse tipo são mais comuns que os psicrófilos e são os mais prováveis de serem encontrados na deterioração de alimentos em baixa temperatura, pois crescem em temperaturas utilizadas em refrigeradores. Usaremos o termo **psicrotróficos**, bastante usado por microbiologistas de alimentos, para este grupo de micro-organismos deteriorantes.

Figura 6.1 Velocidades de crescimento características de diferentes tipos de micro--organismos em resposta à temperatura. O pico da curva representa o crescimento ótimo (reprodução mais rápida). Observe que a velocidade de crescimento decresce rapidamente para temperaturas somente um pouco acima do ótimo. Nos extremos da faixa de temperatura, a velocidade de reprodução é muito menor que a velocidade na temperatura ótima.

P Por que é difícl definir organismos psicrófilos, mesófilos e termófilos?

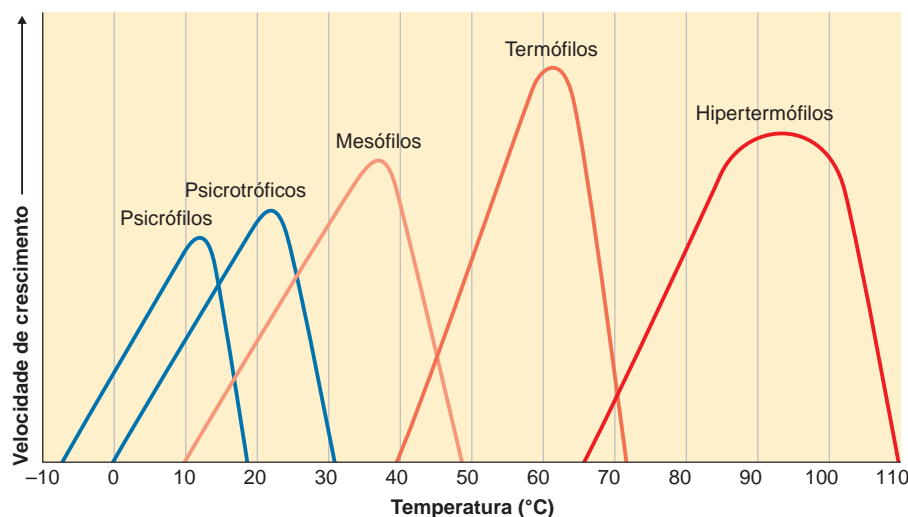
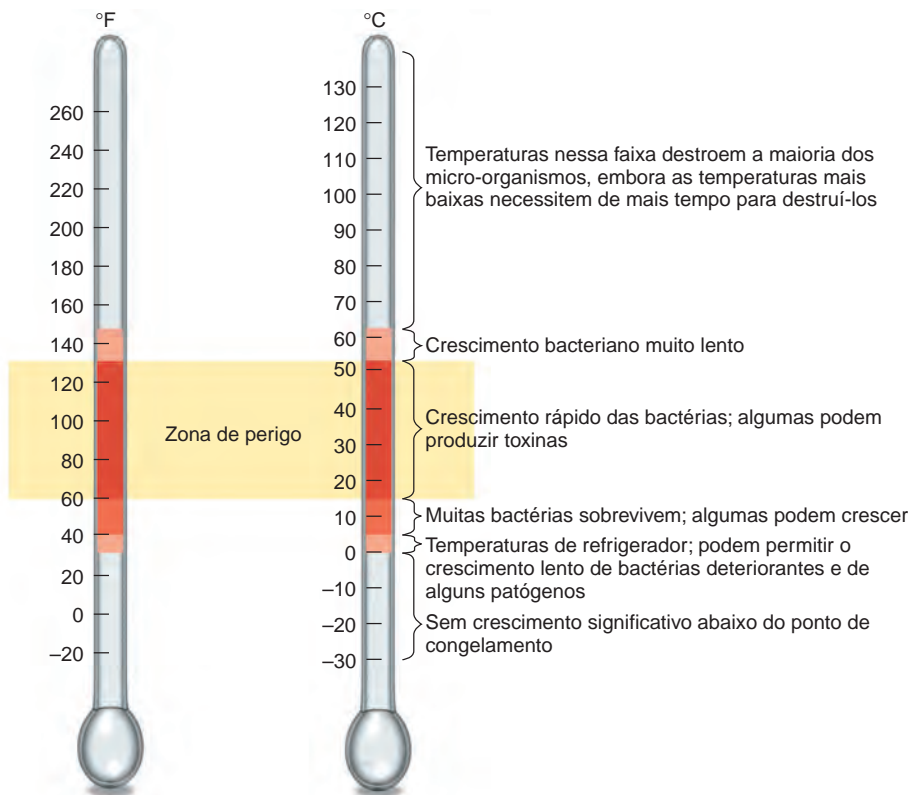



Figura 6.2 Temperaturas de preservação de alimentos. As baixas temperaturas reduzem as velocidades de reprodução microbiana, sendo esse o princípio básico da refrigeração. Sempre há alguma exceção para as respostas às temperaturas mostradas aqui; por exemplo, certas bactérias crescem bem em temperaturas que matariam a maioria das bactérias, e algumas podem na realidade viver em temperaturas bem abaixo do nível de congelamento.

P Qual bactéria teoricamente teria mais probabilidade de crescer na temperatura de um refrigerador: um patógeno humano intestinal ou um patógeno de plantas transmitido pelo solo?

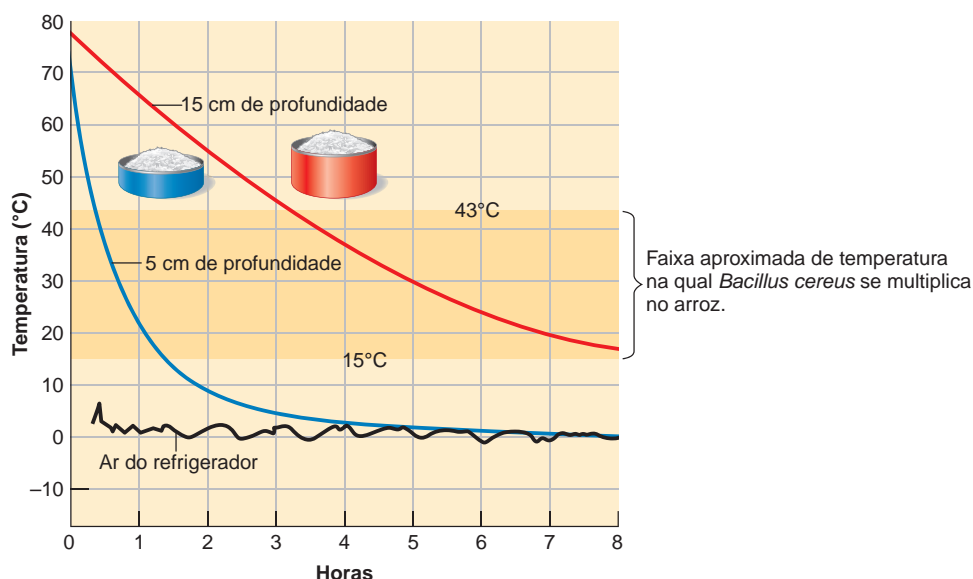
A refrigeração é o método mais comum de preservação dos alimentos. Esse método tem como base o princípio de que as velocidades de reprodução microbiana decrescem em baixas temperaturas. Embora os micro-organismos sobrevivam mesmo em temperaturas próximas do congelamento (podem ficar totalmente dormentes), eles gradualmente diminuem seu número. Algumas espécies diminuem mais rapidamente que outras. Os psicrotróficos na realidade não crescem bem em temperaturas baixas, exceto quando comparados com outros micro-organismos; contudo, em um determinado período, eles são capazes de deteriorar lentamente o alimento. Essa deterioração pode tomar a forma de micélio fúngico, limo na superfície do alimento ou alterações de sabor ou cor nos alimentos. A temperatura dentro de um refrigerador bem ajustado retardará muito o crescimento da maioria dos organismos deteriorantes, impedindo totalmente o crescimento da maior parte das bactérias patogênicas. A **Figura 6.2** ilustra a importância das temperaturas baixas para impedir o crescimento de organismos deteriorantes e patogênicos. Quando grandes quantidades de alimentos devem ser refrigeradas, é importante considerar que esses alimentos serão refrigerados e uma velocidade bastante lenta (**Figura 6.3**).

Os mesófilos, com uma temperatura ótima de crescimento de 25 a 40°C, são os micro-organismos mais comuns. Os organismos que se adaptaram a viver dentro dos corpos de animais geralmente têm uma temperatura ótima próxima daquela de seus hospedeiros. A temperatura ótima para a maioria das bactérias patogênicas é de cerca de 37°C, e as estufas para culturas clínicas em geral são ajustadas nessa temperatura. Os mesófilos incluem a maioria dos organismos deteriorantes e patogênicos.

Os termófilos são micro-organismos capazes de crescer a temperaturas altas. Muitos desses organismos têm uma temperatura ótima de crescimento de 50 a 60°C, a temperatura da água que sai de uma torneira de água quente. Essas temperaturas também podem ser encontradas no solo exposto ao sol e em águas termais. De maneira extraordinária, muitos termófilos não podem crescer em temperaturas abaixo de 45°C. Os endofilosporos formados por bactérias termófilas são anormalmente resistentes à temperatura e podem sobreviver ao tratamento térmico aplicado aos alimentos enlatados. Embora temperaturas elevadas de estocagem possam causar a germinação e o crescimento desses endosporos, levando à deterioração do alimento, essas bactérias termófilas não são consideradas um problema de saúde pública. Os termófilos são importantes em compostos orgânicos acumulados (veja a Figura 27.10), nos quais a temperatura pode subir rapidamente para 50 a 60°C.

Alguns micro-organismos membros das *Arquibactérias* (página 4) têm uma temperatura ótima de crescimento de 80°C ou mais. Esses organismos são chamados de **hipertermófilos** ou, algumas vezes, **termófilos extremos**. A maioria desses organismos vive em fontes de água quente associadas à atividade vulcânica; o enxofre normalmente é importante na sua atividade metabólica. A temperatura mais alta conhecida para crescimento bacteriano e replicação é de cerca de 121°C perto de chaminés hidrotermais abissais. A enorme pressão nas profundezas dos oceanos evita que a água ferva mesmo em temperaturas bem acima de 100°C.

Figura 6.3 Efeito da quantidade de alimento em relação à velocidade de resfriamento e sua probabilidade de deterioração em um refrigerador. Observe neste exemplo que a panela de arroz com uma profundidade de 5 cm resfriou na faixa de temperatura de incubação de *Bacillus cereus* em cerca de 1 hora, enquanto uma panela de arroz com uma profundidade de 15 cm se manteve nessa temperatura durante cerca de 5 horas.

P Considerando uma panela rasa e um pote fundo com o mesmo volume, qual vai resfriar mais rápido?

pH

Como descrito no Capítulo 2 (página 35), pH se refere à acidez ou alcalinidade de uma solução. A maioria das bactérias cresce melhor em uma faixa estreita de pH perto da neutralidade, entre pH 6,5 e 7,5. Poucas bactérias crescem em um pH ácido abaixo de 4. Essa é a razão pela qual muitos alimentos como o chucrute, os picles e muitos queijos são protegidos da deterioração pelos ácidos produzidos pela fermentação bacteriana. No entanto, algumas bactérias, chamadas de **acidófilas**, são resistentes à acidez. Um tipo de bactéria quimioautotrófica, encontrada na água de drenagem das minas de carvão e que oxida enxofre para formar ácido sulfúrico, pode sobreviver em pH 1. Os fungos e as leveduras crescem em uma faixa maior de pH que as bactérias, mas o pH ótimo dos fungos e das leveduras geralmente é menor que o bacteriano, entre pH 5 e 6. A alcalinidade também inibe o crescimento microbiano, mas raramente é utilizada para preservar os alimentos.

Quando bactérias são cultivadas no laboratório, elas com frequência produzem ácidos que algumas vezes interferem com o seu próprio crescimento. Para neutralizar os ácidos e manter o pH apropriado, tampões químicos são incluídos no meio de cultura. As peptonas e os aminoácidos atuam como tampões em alguns meios, e muitos meios também contêm sais de fosfato. Os sais de fosfato têm a vantagem de exibir o seu efeito de tampão na faixa de pH de crescimento da maioria das bactérias. Eles também não são tóxicos; de fato, eles fornecem fósforo, um nutriente essencial.

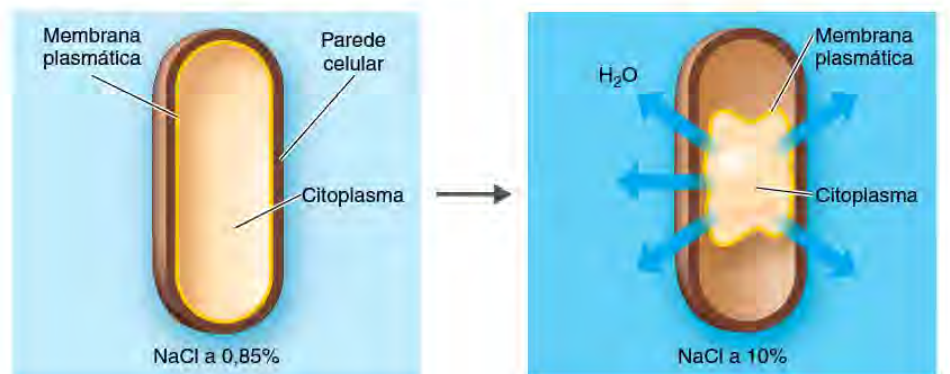
Pressão osmótica

Os micro-organismos obtêm a maioria dos seus nutrientes da água presente no seu meio ambiente. Portanto, eles requerem água para seu crescimento, sendo que sua composição é de 80 a 90% de água. Pressões osmóticas elevadas têm como efeito remover a água necessária para a célula. Quando uma célula microbiana está em uma solução cuja concentração de solutos é mais elevada que dentro da célula (o ambiente é *hipertônico*), a água atravessa a membrana celular para o meio com a concentração mais elevada de soluto. (Veja a discussão sobre osmose no Capítulo 4, páginas 92 a 94, e a Figura 4.18 para os três tipos de soluções ambientais que uma célula pode encontrar.) Essa perda osmótica de água causa uma **plasmólise**, ou encolhimento do citoplasma celular (**Figura 6.4**)

A importância desse fenômeno é que o crescimento da célula é inibido assim que a membrana plasmática se separa da parede celular. Portanto, a adição de sais (ou outros solutos) em uma solução, e o aumento resultante na pressão osmótica, pode ser utilizada para preservar alimentos. Peixe salgado, mel e leite condensado são preservados por esse mecanismo, sendo que as concentrações elevadas de sal ou açúcar removem a água fora de qualquer célula microbiana presente e consequentemente impedem seu crescimento. Esses efeitos da pressão osmótica estão em parte relacionados com o número de moléculas e íons dissolvidos em um volume de solução.

Alguns micro-organismos, chamados de **halófilos extremos**, são tão adaptados a concentrações elevadas de sais que acabam de fato requerendo sua presença para que ocorra seu crescimento. Nesse caso, eles podem ser denominados **halófilos obrigatórios**. Os organismos de águas salinas como o Mar Morto requerem frequentemente cerca de 30% de sal, e a alça de inoculação (equipamento usado no laboratório para manipulação de bactérias) utilizada para transferência deve ser mergulhada em uma solução saturada de sal. Mais comuns são os **halófilos facultativos**, que não requerem concentrações elevadas de sal, mas são capazes de crescer em concentrações de até 2% de sal, o que inibe o crescimento de muitos organismos. Algumas espécies de halófilos facultativos podem tolerar mesmo 15% de sal.

A maioria dos micro-organismos, contudo, deve ser cultivada em meio constituído quase que somente de água. Por exemplo, a concentração de ágar (um polissacarídeo complexo isolado de uma alga marina) utilizada para solidificar os meios de cultura normalmente é de cerca de 1,5%. Se concentrações bem mais altas são utilizadas, a pressão osmótica aumentada pode inibir o crescimento de algumas bactérias.

Se a pressão osmótica é anormalmente baixa (o ambiente é *hipotônico*) – tal como na água destilada, por exemplo – a água tende a entrar na célula em vez de sair. Alguns micro-organismos que têm

(a) Célula normal em solução isotônica. Sob essas condições, a concentração de solutos na célula é equivalente a uma concentração de soluto de 0,85% de cloreto de sódio (NaCl). Veja a Figura 4.18.

(b) Célula plasmolisada em solução hipertônica. Se a concentração do soluto como NaCl é maior no ambiente circundante que na célula (o ambiente é hipertônico), a água tende a deixar a célula. O crescimento celular é inibido.

Figura 6.4 Plasmólise.

P Cite um alimento preservado pela pressão osmótica elevada.

uma parede celular relativamente frágil podem ser lisados com esse tratamento.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que os hipertermófilos que crescem em temperaturas acima de 100°C são aparentemente limitados às profundezas marinhas? **6-1**
- ✓ Além de controlar a acidez, qual é a vantagem de utilizar sais de fosfato como tampões em meios de cultura? **6-2**
- ✓ Por que as civilizações primitivas podem ter utilizado técnicas de preservação de alimentos que dependem da pressão osmótica? **6-3**

Fatores químicos

Carbono

Além da água, um dos fatores mais importantes para o crescimento microbiano é o carbono. O carbono é o esqueleto estrutural da matéria viva; ele é necessário para todos os compostos orgânicos que constituem uma célula viva. Metade do peso seco de uma célula bacteriana típica é composta de carbono. Os quimio-heterotróficos obtêm a maior parte do seu carbono de sua fonte de energia – materiais orgânicos como proteínas, carboidratos e lipídeos. Os quimioautotróficos e os fotoautotróficos derivam seu carbono do dióxido de carbono.

Nitrogênio, enxofre e fósforo

Além do carbono, os micro-organismos necessitam de outros elementos para sintetizar material celular. Por exemplo, a síntese de proteínas requer quantidades consideráveis de nitrogênio e enxofre. A síntese de DNA e RNA também requer nitrogênio e algum fósforo, assim como para a síntese de ATP, a molécula responsável pelo armazenamento e pela transferência de energia dentro da célula. O nitrogênio constitui cerca de 14% do peso seco da célula bacteriana, e o enxofre e o fósforo juntos constituem cerca de 4%.

Os organismos utilizam o nitrogênio essencialmente para formar o grupo amino dos aminoácidos das proteínas. Muitas bactérias obtêm esses compostos da decomposição de material contendo proteína e incorporando de volta os aminoácidos em novas proteínas e outros compostos nitrogenados sintetizados. Outras bactérias utilizam o nitrogênio dos íons amônio (NH_4^+), que já estão na forma reduzida e geralmente são encontrados no material celular orgânico. Ainda outras bactérias são capazes de derivar o nitrogênio dos nitratos (compostos que se dissociam para produzir íon nitrato NO_3^- em solução).

Algumas bactérias importantes, incluindo muitas das cianobactérias fotossintéticas (página 140), utilizam o nitrogênio gasoso (N_2) diretamente da atmosfera. Esse processo é chamado de **fixação do nitrogênio**. Alguns organismos que podem utilizar esse método são de vida livre, a maioria no solo, mas outros vivem cooperativamente em simbiose com as raízes de leguminosas como trevo, soja, alfafa, feijões e ervilhas. O nitrogênio fixado na simbiose é utilizado tanto pela planta quanto pela bactéria (veja o Capítulo 27).

O enxofre é utilizado para sintetizar os aminoácidos contendo enxofre e vitaminas como a tiamina e a biotina. Fontes naturais importantes de enxofre incluem o íon sulfato (SO_4^{2-}), o sulfeto de hidrogênio e os aminoácidos contendo enxofre.

O fósforo é essencial para a síntese dos ácidos nucleicos e dos fosfolipídeos das membranas celulares. Entre outros lugares, ele é encontrado também nas ligações de energia do ATP. Uma fonte de fósforo é o íon fosfato (PO_4^{3-}). Potássio, magnésio e cálcio também são elementos que os micro-organismos requerem, frequentemente como cofatores para as reações enzimáticas (veja o Capítulo 5, páginas 116 e 117).

Elementos traços

Os micro-organismos requerem quantidades muito pequenas de outros elementos minerais, como ferro, cobre, molibdênio e zinco, que são referidos como **elementos traços**. A maioria é essencial para as funções de certas enzimas, geralmente como cofatores. Embora esses elementos algumas vezes sejam adicionados ao meio de cultivo laboratorial, eles costumam estar naturalmente presentes na água de torneira e em outros componentes dos meios de cultivo. Mesmo que a água destilada contenha quantidades adequadas de minerais traços, o uso da água de torneira algumas vezes é recomendado para confirmar que esses minerais estão presentes nos meios de cultura.

Tabela 6.1 **O efeito do oxigênio no crescimento de vários tipos de bactérias**

	a. Aeróbicos obrigatórios	b. Anaeróbicos facultativos	c. Anaeróbicos obrigatórios	d. Anaeróbicos aerotolerantes	e. Microaerófilos
Efeito do oxigênio no crescimento	Somente crescimento aeróbico.	Crescimento aeróbico e anaeróbico; crescimento maior na presença de oxigênio.	Crescimento somente anaeróbico; não há crescimento na presença de oxigênio.	Crescimento somente anaeróbico, mas continua na presença de oxigênio.	Crescimento somente aeróbico; oxigênio requerido em baixa concentração.
Crescimento bacteriano em tubo com meio de cultura sólido					
Explicações para os padrões de crescimento	Crescimento somente em altas concentrações difundidas.	Crescimento melhor onde mais oxigênio está presente, mas ocorre em todo o tubo.	Crescimento somente onde não há oxigênio.	Crescimento igual; o oxigênio não tem efeito.	Crescimento onde há uma baixa concentração de oxigênio difundido.
Explicações para os efeitos do oxigênio	A presença das enzimas catalase e superóxido-dismutase (SOD) permite que as formas tóxicas do oxigênio sejam neutralizadas	A presença das enzimas catalase e SOD permite que as formas tóxicas do oxigênio sejam neutralizadas; pode utilizar oxigênio.	Ausência das enzimas que neutralizam as formas tóxicas do oxigênio; não tolera oxigênio.	A presença de uma enzima, SOD, permite que as formas tóxicas do oxigênio sejam parcialmente neutralizadas; tolera oxigênio.	Produção de quantidades letais de formas tóxicas do oxigênio se expostos à atmosfera normal de oxigênio.

Oxigênio

Estamos acostumados a pensar no oxigênio molecular (O_2) como um elemento necessário à vida, mas em algumas circunstâncias esse elemento pode se tornar um gás venenoso. Houve pouco oxigênio molecular na atmosfera durante a maior parte da história da Terra – na realidade, é possível que a vida não tivesse surgido se houvesse oxigênio. Contudo, muitas formas comuns de vida têm sistemas metabólicos que requerem oxigênio para a respiração aeróbica. Como vimos, os átomos de hidrogênio extraídos dos compostos orgânicos combinam-se com o oxigênio para formar água, como mostrado na Figura 5.14 (página 129). Esse processo fornece uma grande quantidade de energia e ao mesmo tempo neutraliza um gás potencialmente tóxico – uma solução muito engenhosa afinal.

Os micro-organismos que utilizam o oxigênio molecular (aeróbicos) produzem mais energia a partir dos nutrientes que os micro-organismos que não utilizam o oxigênio (anaeróbicos). Os organismos que requerem oxigênio para viver são chamados de **aeróbicos obrigatórios** (Tabela 6.1a)

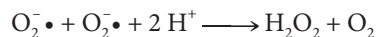
P&R Os aeróbicos obrigatórios têm uma desvantagem já que o oxigênio é pouco solúvel na água do seu ambiente. Por isso, muitas das bactérias aeróbicas têm desenvolvido, ou mantido, a capacidade de continuar a crescer na ausência do oxigênio. Tais organismos são chamados de **anaeróbicos facultativos** (Tabela 6.1b). Em outras palavras, os anaeróbicos facultativos podem utilizar o oxigênio quando ele está presente, mas são capazes de continuar a crescer utilizando a fermentação ou a respiração anaeróbica quando o oxigênio não está disponível. Contudo, a sua eficácia em produzir energia é reduzida na ausência do oxigênio. Um exemplo de anaeróbico facultativo é a *Escherichia coli*, encontrada no trato intestinal humano. Muitas leveduras também são anaeróbicos facultativos. Lembre-se da discussão sobre respiração anaeróbica no Capítulo 5 (página 132) que muitos micro-organismos são capazes de substituir o oxigênio por outros receptores de elétrons, como os íons nitrato, algo que os seres humanos são incapazes de fazer.

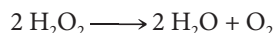
Os **anaeróbicos obrigatórios** (Tabela 6.1c) são bactérias incapazes de utilizar o oxigênio molecular para as reações produtoras de energia. De fato, isso é prejudicial para muitos deles. O gênero *Clostridium*, que contém espécies que causam o tétano e o botulismo, é o exemplo mais conhecido. Essas bactérias podem utilizar os átomos presentes nos materiais celulares. Esses átomos geralmente são obtidos da água.

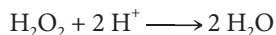
Entender como os organismos podem ser danificados pelo oxigênio requer uma breve discussão sobre as formas tóxicas do oxigênio:

1. O **oxigênio singlet** ($^1O_2^-$) é o oxigênio molecular normal (O_2) que foi induzido a um estado de alta energia sendo extremamente reativo.
2. Os **radicais superóxidos** ($O_2^{\cdot-}$), ou **ânions superóxidos**, são formados em pequenas quantidades durante a respiração normal dos organismos que utilizam o oxigênio como aceptor final de elétrons, produzindo água. Na presença de oxigênio, os anaeróbicos obrigatórios parecem formar também alguns radicais superóxidos, que são tão tóxicos para os componentes celulares

que todos os organismos tentando crescer no oxigênio atmosférico devem produzir uma enzima, a **superóxido-dismutase** (**SOD**), para neutralizar esses radicais. Sua toxicidade é causada por sua grande instabilidade, que faz com que sejam retirados elétrons das moléculas vizinhas, produzindo um efeito de remoção de elétrons em cascata. Os aeróbicos, os anaeróbicos facultativos crescendo aerobicamente e os anaeróbicos aerotolerantes (discutidos em breve) produzem SOD, com a qual eles convertem o radical superóxido em oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2):

$$O_2^{-}\bullet + O_2^{-}\bullet + 2\,H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

3. O peróxido de hidrogênio produzido na reação contém o **ânion peróxido** $O2^{2-}$, que também é tóxico. No Capítulo 7 (página 202), ele será apresentado como o princípio ativo nos agentes antimicrobianos peróxido de hidrogênio e peróxido benzoico. Como o peróxido de hidrogênio produzido durante a respiração aeróbica normal é tóxico, os micro-organismos desenvolveram enzimas para sua neutralização. A mais comum é a **catalase**, que converte o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio:

$$2\,H_2O_2 \longrightarrow 2\,H_2O + O_2$$

A catalase é facilmente detectada por sua ação no peróxido de hidrogênio. Quando uma gota de peróxido de hidrogênio é adicionada a uma colônia de células bacterianas produzindo catalase, bolhas de oxigênio são liberadas. Quando se coloca uma gota de peróxido de hidrogênio em um ferimento, observa-se que as células de tecido humano também produzem catalase. Outra enzima que quebra o peróxido de hidrogênio é a **peroxidase**, que difere da catalase por não produzir oxigênio:

$$H_2O_2 + 2\,H^+ \longrightarrow 2\,H_2O$$

Outra forma importante de oxigênio reativo, o **ozônio** (O_3), também é discutida na página 202.

4. O **radical hidroxila** (OH•) é outra forma intermediária do oxigênio, sendo provavelmente a mais reativa. Ele é formado no citoplasma celular por radiação ionizante. A maioria da respiração aeróbica produz traços de radicais hidroxila, mas eles são transitórios.

Essas formas tóxicas do oxigênio são um componente essencial de uma das mais importantes defesas do corpo contra os patógenos, a fagocitose (veja a página 457 e a Figura 16.7). No fagolisossomo da célula fagocítica, os patógenos ingeridos são mortos pela exposição ao oxigênio singlet, aos radicais superóxidos, aos ânions peróxidos do peróxido de hidrogênio e aos radicais hidroxila e outros compostos oxidativos relacionados.

Os anaeróbicos obrigatórios geralmente não produzem nem superóxido-dismutase nem catalase. Como as condições aeróbicas provavelmente conduzam a um acúmulo de radicais superóxidos no citoplasma, os anaeróbicos obrigatórios são extremamente sensíveis ao oxigênio.

Os **anaeróbicos aerotolerantes** (Tabela 6.1d) não podem utilizar o oxigênio para crescimento, mas o toleram relativamente bem. Na superfície de um meio sólido, eles crescerão sem a utilização das técnicas especiais (discutidas mais tarde) requeridas pelos anaeróbicos obrigatórios. Muitas das bactérias aerotolerantes fermentam de modo característico os carboidratos em ácido lático. À medida que o ácido lático se acumula, ele inibe o crescimento dos competidores aeróbicos e estabelece um nicho ecológico favorável aos produtores de ácido lático. Um exemplo comum de anaeróbicos aerotolerantes produtores de ácido lático são os lactobacilos utilizados na produção de muitos alimentos ácidos fermentados, como picles e queijo. No laboratório, eles são manuseados e cultivados como outras bactérias, mas não utilizam o oxigênio do ar. Essas bactérias podem tolerar o oxigênio porque possuem uma SOD ou um sistema equivalente que neutraliza as formas tóxicas do oxigênio discutidas anteriormente.

Poucas bactérias são **microaerófilas** (Tabela 6.1e). Elas são aeróbicas, requerendo oxigênio. Contudo, crescem somente em concentrações de oxigênio inferiores à do ar. Em um tubo teste de meio nutritivo sólido, essas bactérias crescem apenas no fundo, onde somente pequenas quantidades difundiram-se no meio; elas não crescem perto da superfície rica em oxigênio, nem abaixo da faixa estreita de oxigênio adequado. Essa tolerância limitada provavelmente seja devida a sua sensibilidade aos radicais superóxidos e peróxidos que são produzidos em concentrações letais sob condições ricas em oxigênio.

Fatores orgânicos de crescimento

Os compostos orgânicos essenciais que um organismo é incapaz de sintetizar são conhecidos como **fatores orgânicos de crescimento**. Eles devem ser obtidos diretamente do ambiente. Um grupo de fatores orgânicos de crescimento para os seres humanos é o das vitaminas. A maioria das vitaminas funciona como coenzimas, os cofatores orgânicos requeridos por certas enzimas para seu funcionamento. Muitas bactérias podem sintetizar suas próprias vitaminas e não dependem de fontes externas. Contudo, algumas bactérias não possuem as enzimas necessárias para a síntese de certas vitaminas, que são para elas fatores orgânicos de crescimento. Outros desses fatores requeridos por certas bactérias são aminoácidos, purinas e pirimidinas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Se células bacterianas recebem uma fonte de enxofre contendo enxofre radioativo (^{35}S) em seus meios de cultura, em que moléculas o ^{35}S poderia ser encontrado nas células? **6-4**
- ✓ Como pode-se determinar se um micro-organismo é anaeróbico estrito? **6-5**
- ✓ O oxigênio está presente no ambiente de um modo que seria muito difícil para um micro-organismo evitar sempre o seu contato. Qual é, portanto, a maneira mais óbvia para o micro-organismo evitar danos? **6-6**

Biofilmes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

6-7 Descrever a formação de biofilmes e seu potencial para causar infecção.

Na natureza, os micro-organismos raramente vivem em colônias isoladas de uma única espécie, como vemos no laboratório. Mais tipicamente, eles vivem em comunidades chamadas de **biofilmes**. Esse fato não foi comprovado até o desenvolvimento da micros-

copia confocal (veja a página 62), o que permitiu que a estrutura tridimensional dos biofilmes fosse visualizada. Os biofilmes residem em uma matriz feita essencialmente de polissacarídeos, mas contendo também DNA e proteínas, com frequência chamada de *limo*. Um biofilme também pode ser considerado um *hidrogel*, um polímero complexo contendo uma quantidade de água que corresponde a várias vezes seu peso seco. Uma comunicação química entre as células ou *quorum sensing*, permite às bactérias coordenarem sua atividade e se agrupar em comunidades que fornecem benefícios não muito diferentes daqueles de organismos multicelulares (veja o quadro no Capítulo 3, página 57). Portanto, os biofilmes não são somente camadas limosas bacterianas, mas sistemas biológicos; as bactérias são organizadas em uma comunidade funcional coordenada. Os biofilmes geralmente são fixados em superfícies como uma pedra em um lago, um dente humano (placa; veja a Figura 25.3, página 708) ou uma membrana mucosa. Essa comunidade pode ser de uma única espécie ou de grupos diversos de micro-organismos. Os biofilmes também podem ter outras formas. A espuma que se forma em certos tipos de tratamento de efluentes (veja a Figura 27.20, página 786) é um exemplo. Em fluxo de corrente rápida, o biofilme pode tomar a forma de serpentinas filamentosas. Dentro da comunidade de um biofilme, as bactérias são capazes de compartilhar nutrientes e são protegidas de fatores danosos do ambiente, como a dissecação, os antibióticos e o sistema imune corpal. A proximidade estreita entre os micro-organismos dentro do biofilme também pode ter a vantagem de facilitar a transmissão de informação genética por conjugação, por exemplo.

Um biofilme geralmente começa a se formar quando uma bactéria livre nadadora (planctônica) se fixa em uma superfície. Se essa bactéria crescesse em uma monocamada uniformemente fina, esta ficaria superlotada, os nutrientes não seriam disponíveis na parte mais profunda e resíduos tóxicos se acumulariam. Os micro-organismos nas comunidades de biofilme algumas vezes evitam esses problemas formando estruturas em forma de pilares (**Figura 6.5**) com canais entre eles através dos quais a água pode introduzir nutrientes e retirar resíduos. Isso constitui um sistema circulatório primitivo. Micro-organismos individuais e agregados de limo eventualmente deixam o biofilme e se movem para um novo local, para onde o biofilme vai se estender. Esse biofilme geralmente é composto de uma camada superficial de cerca de 10 μm de espessura, com pilares que se elevam até 200 μm acima dela.

Os micro-organismos nos biofilmes podem trabalhar em cooperação para desenvolver tarefas complexas. Por exemplo, o sistema digestório dos animais ruminantes, como o gado, requer muitas espécies diferentes de micro-organismos para quebrar a celulose. Os micro-organismos no sistema digestório dos ruminantes estão localizados essencialmente em comunidades de biofilmes. Os biofilmes também são elementos essenciais para o funcionamento adequado dos sistemas de tratamento de resíduos, discutidos no Capítulo 27. Contudo, eles podem ser um problema em canos e tubulações, onde seu acúmulo impede a circulação.

Os biofilmes são um importante fator para a saúde humana. Por exemplo, os micro-organismos em um biofilme provavelmente sejam 1.000 vezes mais resistentes aos microbicidas. Especialistas do Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estimam que 70% das infecções bacterianas humanas envolvam biofilmes. A maioria das infecções nosocomiais (infecções hospitalares) está relacionada à presença de biofilmes nos cateteres médicos (veja a Figura 1.8 na página 19 e a Figura 21.3 na página 587). De fato, os biofilmes se formam em quase todos os equipamentos médicos, incluindo as válvulas mecânicas cardíacas. Os biofilmes, que podem incluir aqueles formados por fungos como *Candida*, são encontrados em muitas situações de doença, tais como as infecções relacionadas ao uso de lentes de contato, cáries dentárias (veja a página 707) e infecções por bactérias do gênero *Pseudomonas* (veja a página 308). Veja o quadro na página 164.

Uma abordagem para prevenir a formação de biofilme é a aplicação de antimicrobianos sobre as superfícies nas quais os biofilmes podem se formar (veja a página 57). Como os sinais químicos que permitem o *quorum sensing* são essenciais para a formação de biofilme, pesquisas estão sendo realizadas para esclarecer o funcionamento desses sinais e talvez os bloquear. Outra abordagem envolve a descoberta de que a lactoferrina (veja a página 470), que é abundante em muitas secreções humanas, pode inibir a formação de biofilme. A lactoferrina fixa o ferro, particularmente nas pseudomônadas responsáveis pelos biofilmes da fibrose cística, a causa da patologia dessa doença hereditária. A falta de ferro inibe a mobilidade superficial, importante para a agregação das bactérias nos biofilmes.

A maioria dos métodos laboratoriais na microbiologia atual utiliza organismos cultivados no seu modo planctônico. Contudo, os microbiologistas acreditam que o foco das pesquisas com micro-organismos será a relação de vida entre eles, e isso será considerado também na pesquisa industrial e médica.

As correntes de água se movem, como mostrado pela seta azul, entre os pilares de limo formados pelo crescimento das bactérias aderidas nas superfícies sólidas. Isso permite um acesso eficiente dos nutrientes e uma remoção dos produtos residuais. Bactérias individuais formadoras de limo ou agregados de limo se desprendem e migram para um novo local. Veja a Figura 1.8.

Figura 6.5 Biofilmes.

P Como é chamado o biofilme formado nos dentes?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Identifique uma razão pela qual os patógenos encontram uma vantagem em formar biofilme. **6-7**

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Infecção sanguínea após cateterização

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os agentes de controle de infecção se perguntam quando tentam descobrir a fonte de uma infecção. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. No início de março, uma solução intravenosa de heparina foi recolhida após pacientes de quatro estados ter desenvolvido infecções sanguíneas por *Pseudomonas fluorescens*.

   Após examinar a Figura A, você considera que o recolhimento foi eficiente?

2. Três meses após o recolhimento, pacientes em dois estados diferentes desenvolveram infecções sanguíneas.

   O que é preciso saber?

3. A última exposição à heparina contaminada foi de 84 a 421 dias antes do começo das infecções. Esses pacientes não desenvolveram infecções durante o episódio de janeiro a fevereiro. Todos os pacientes tiveram cateteres venosos; esses tubos são inseridos em uma veia para administração a longo prazo de soluções concentradas, como drogas anticancerosas.

   Qual é o próximo passo?

4. Investigações locais confirmaram que as clínicas dos pacientes não usavam mais e tinham devolvida a heparina recolhida. Culturas da nova heparina utilizada não recuperaram organismos.

   O que fazer a seguir?

5. Culturas sanguíneas e dos cateteres foram feitas (Figura B).

   Qual é o resultado mostrado na Figura B?

6. *P. fluorescens* foi cultivado de 15 pacientes e 17 cateteres. Estes foram os primeiros casos conhecidos de infecções sanguíneas substancialmente retardadas (84 a 421 dias) após exposição a uma solução intravenosa contaminada.

   Qual foi a fonte das infecções?

7. Microscopia eletrônica de varredura no Centro para Controle e Prevenção de Doenças mostrou que *P. fluorescens* colonizou o interior dos cateteres pela formação de biofilmes; estudos prévios de microscopia eletrônica indicaram que praticamente todos os cateteres vasculares ficam colonizados por micro-organismos encravados em uma camada de biofilme. A heparina foi descrita como estimulante da formação de biofilme.

Figura A Ocorrência de infecções sanguíneas por *P. fluorescens* em pacientes com cateteres intravenosos.

Iluminado com luz branca | Iluminado com luz ultravioleta

Figura B. *P. fluorescens* é um bastonete aeróbico gram-negativo que cresce melhor em temperaturas de aproximadamente 25 a 30°C e cresce pouco na temperatura de incubação padrão das estufas microbiológicas hospitalares (cerca de 36°C). As bactérias produzem um pigmento que aparece fluorescente sob luz ultravioleta.

Por que *P. fluorescens* causa infecção em uma média de 237 dias após exposição à heparina contaminada?

8. Embora *P. fluorescens* possa não ter entrado na circulação sanguínea dos pacientes em quantidades suficientes para causar sintomas na exposição inicial à heparina contaminada, a formação do biofilme permitiu às bactérias persistir nos cateteres. As bactérias podem ter proliferado no biofilme, tendo sido retiradas pelas soluções intravenosas não contaminadas subsequentes e liberadas na corrente sanguínea, causando finalmente os sintomas.

Fonte: adaptado do *MMWR* 55 (35): 961-963 (8/9/06).

Meio de cultura

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **6-8** Diferenciar os meios quimicamente definido e complexo.
- **6-9** Justificar a utilização dos seguintes itens: técnicas anaeróbicas, células hospedeiras vivas, jarras com velas, meios seletivos e diferenciais e meio de enriquecimento.
- **6-10** Diferenciar os níveis de biossegurança 1, 2, 3 e 4.

O material nutriente preparado para o crescimento de micro-organismos em um laboratório é chamado de **meio de cultura**. Algumas bactérias podem crescer bem em qualquer meio de cultura; outras requerem meios especiais, e outras ainda não podem crescer em qualquer dos meios não vivos até agora desenvolvidos. Os micro-organismos introduzidos em um meio de cultura para iniciar o crescimento são chamados de **inóculo**. Os micro-organismos que crescem e se multiplicam dentro ou sobre um meio de cultura são denominados **cultura.**

Supondo que queremos cultivar determinado micro-organismo, talvez de uma amostra clínica em particular, que critérios o meio de cultura deve apresentar? Primeiro, ele deve conter os nutrientes adequados para o micro-organismo específico que queremos cultivar. Ele deve conter também uma quantidade de água suficiente, um pH apropriado e um nível conveniente de oxigênio ou talvez nenhum. O meio deve ser **estéril** – isto é, deve inicialmente não conter micro-organismos vivos – dessa forma a cultura conterá somente os micro-organismos (e sua descendência) que foram introduzidos. Finalmente, a cultura em crescimento deve ser incubada em temperatura apropriada.

Uma grande variedade de meios está disponível para o crescimento de micro-organismos no laboratório. A maioria desses meios, que estão disponíveis de fontes comerciais, tem componentes pré-misturados e requer somente a adição de água e a esterilização. Meios são constantemente desenvolvidos ou atualizados para utilização no isolamento e na identificação de bactérias que são de interesse para os pesquisadores em campos como a microbiologia de alimentos, de água e clínica.

Quando se deseja o crescimento das bactérias em meio sólido, um agente solidificante como o ágar é adicionado ao meio. Um polissacarídeo complexo derivado de uma alga marinha, o **ágar** tem sido utilizado há muito tempo para deixar alimentos como geleias e sorvetes mais espessos.

O ágar tem algumas propriedades muito importantes que o tornam valioso em microbiologia, nunca tendo sido encontrado um substituto satisfatório. Poucos micro-organismos podem degradar o ágar, o que permite que ele permaneça sólido. Além disso, o ágar se liquefaz a cerca de 100°C (o ponto de ebulição da água) e ao nível do mar ele permanece líquido até a temperatura diminuir até cerca de 40°C. Para utilização no laboratório, o ágar é mantido em banho-maria a 50°C. Nessa temperatura, ele não destrói a maioria das bactérias quando adicionado sobre elas (como mostrado na Figura 6.17a, página 176). Uma vez solidificado, ele pode ser incubado a cerca de 100°C antes de se liquefazer de novo; essa propriedade é particularmente útil quando bactérias termófilas são cultivadas.

Os meios com ágar geralmente são contidos em tubos de ensaio ou *placas de Petri*. Os tubos de ensaio são chamados de *inclinados* quando a solidificação é feita com o tubo inclinado em um ângulo de modo que uma grande área de superfície esteja disponível para o crescimento. Quando o ágar é solidificado em um tubo mantido na vertical, ele é chamado de *profundo*. As placas de Petri, denominadas em homenagem a seu inventor, são placas rasas com uma tampa que as recobre até o fundo para evitar contaminações; quando preenchidas, são chamadas de culturas sólidas em *placas de Petri*.

Meio quimicamente definido

Para sustentar o crescimento microbiano, um meio deve fornecer uma fonte de energia, assim como fontes de carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo e quaisquer outros fatores orgânicos de crescimento que o organismo seja incapaz de sintetizar. Um **meio quimicamente definido** é aquele cuja composição exata é conhecida. Para um quimio-heterotrófico, o meio quimicamente definido deve conter fatores de crescimento orgânicos que servem como fonte de carbono e energia. Por exemplo, como mostrado na **Tabela 6.2**, a glicose é incluída no meio para crescimento do quimio-heterotrófico *E. coli*.

Como a **Tabela 6.3** mostra, muitos fatores de crescimento orgânicos devem ser fornecidos no meio quimicamente definido utilizado para cultivar uma espécie de *Neisseria* (página 306). Os organismos que requerem muitos fatores de crescimento são descritos como *fastidiosos*. Organismos desse tipo, como os *Lactobacillus* (página 318), algumas vezes são utilizados em testes que determinam a concentração de uma vitamina específica em uma substância. Para a realização de um *ensaio microbiológico* desse tipo, um meio de crescimento é preparado com todos os fatores de crescimento exceto a vitamina a ser testada. Então, o meio, a substância a ser testada e a bactéria são combinados, e o crescimento da bactéria é mensurado. Esse crescimento microbiano, que é refletido pela quantidade de ácido lático produzida, será proporcional à quantidade de vitamina na substância testada. Uma quantidade de ácido lático maior significa que mais células de *Lactobacillus* foram capazes de crescer, e portanto maior quantidade de vitamina era presente.

Tabela 6.2 **Meio quimicamente definido para o crescimento de um quimio-heterotrófico típico como *Escherichia coli***

Componentes	Quantidades
Glicose	5,0 g
Fosfato de amônio, monobásico (NH_4 H_2 FO_4)	1,0 g
Cloreto de sódio (NaCl)	5,0 g
Sulfato de magnésio ($MgSO_4$-$7H_2O$)	0,2 g
Fosfato de potássio, dibásico (K_2HPO_4)	1,0 g
Água	1 litro

Meio complexo

Os meios quimicamente definidos geralmente são reservados para trabalhos experimentais no laboratório ou para o crescimento de bactérias autotróficas. A maioria das bactérias e dos fungos, como aqueles analisados em um curso de introdução ao laboratório, é cultivada rotineiramente em **meios complexos** feitos de nutrientes como extratos de leveduras, de carnes ou de plantas, ou produtos de digestão destas ou de outras fontes. A composição química exata varia um pouco de acordo com o lote. A **Tabela 6.4** mostra uma formulação muito utilizada.

Nos meios complexos, as necessidades de energia, carbono, nitrogênio e enxofre dos micro-organismos em cultura são fornecidas essencialmente pelas proteínas. Uma proteína é uma molécula grande e relativamente insolúvel que alguns micro-organismos podem utilizar diretamente, mas uma digestão parcial por ácidos ou enzimas reduz a proteína em cadeias de aminoácidos mais curtas chamadas de *peptonas*. Esses fragmentos pequenos e solúveis podem ser digeridos pela maioria das bactérias.

Vitaminas e outros fatores orgânicos de crescimento são fornecidos pelos extratos de carne e de levedura. As vitaminas solúveis e os minerais das carnes e das leveduras são dissolvidos na água de extração, que é então evaporada para concentrar esses fatores. (Esses extratos também fornecem nitrogênio orgânico e compostos de carbono.) Os extratos de levedura são particularmente ricos em vitaminas B. Se um meio complexo apresenta forma líquida, ele é chamado de **caldo nutriente**. Quando ágar é adicionado, ele é chamado de **ágar nutriente**. (Essa terminologia pode ser confusa. Deve-se ressaltar que somente o ágar em si não é um nutriente.)

Tabela 6.3 **Meio quimicamente definido para o crescimento de uma bactéria quimio-heterotrófica fastidiosa como *Neisseria gonorrhoeae***

Componentes	Quantidades	Componentes	Quantidades
Fontes de Carbono e Energia		**Aminoácidos**	
Glicose	9,1 g	Cisteína	1,5 g
Amido	9,1 g	Arginina, prolina (cada)	0,3 g
Acetato de sódio	1,8 g	Ácido glutâmico, metionina (cada)	0,2 g
Citrato de sódio	1,4 g	Asparagina, isoleucina, serina (cada)	0,2 g
Oxaloacetato	0,3 g	Cistina	0,06 g
Sais		**Fatores Orgânicos de Crescimento**	
Fosfato de potássio, dibásico (K_2HPO_4)	12,7 g	Pantotenato de cálcio	0,02 g
Cloreto de sódio (NaCl)	6,4 g	Tiamina	0,02 g
Fosfato de potássio, monobásico (KH_2PO_4)	5,5 g	Nicotinamida adenina dinucleotídeo	0,01 g
Bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$)	1,2 g	Uracila	0.006 g
Sulfato de potássio (K_2SO_4)	1,1 g	Biotina	0,005 g
Sulfato de sódio (Na_2SO_4)	0,9 g	Hipoxantina	0,003 g
Cloreto de magnésio ($MgCl_2$)	0,5 g	**Agente Redutor**	
Cloreto de amônio (NH_4Cl)	0,4 g	Tioglicolato de sódio	0,00003 g
Cloreto de potássio (KCl)	0,4 g	**Água**	1 litro
Cloreto de cálcio ($CaCl_2$)	0,006 g		
Nitrato de ferro [$Fe(NO_3)_3$]	0,006 g		

Fonte: R. M. Atlas, *Handbook of Microbiological Media*, Ann Arbor, MI: CRC Press, 1993.

Tabela 6.4 **Composição do ágar nutriente: um meio complexo para o crescimento de bactérias heterotróficas**

Componentes	Quantidades
Peptona (proteína parcialmente digerida)	5,0 g
Extrato de carne	3,0 g
Cloreto de sódio	8,0 g
Ágar	15,0 g
Água	1 litro

Meios e métodos para o crescimento anaeróbico

A cultura de bactérias anaeróbicas apresenta um problema particular. Como os anaeróbicos podem ser mortos pela exposição ao oxigênio, meios especiais, chamados de **meios redutores**, devem ser utilizados. Esses meios contêm ingredientes, como o tioglicolato de sódio, que combinam-se quimicamente com o oxigênio dissolvido e o eliminam no meio de cultura. Para cultivar e manter culturas puras de anaeróbicos obrigatórios, os microbiologistas utilizam meios redutores armazenados em tubos de ensaio firmemente tampados. Esses meios são aquecidos rapidamente antes de ser utilizados, para eliminar o oxigênio absorvido.

Quando placas de Petri são utilizadas para o crescimento e a observação de colônias isoladas, vários métodos estão disponíveis. Laboratórios que trabalham com relativamente poucas placas de cultura de cada vez podem utilizar sistemas para a incubação dos micro-organismos em caixas e jarras seladas das quais o oxigênio é removido quimicamente após as placas de cultura terem sido introduzidas e a jarra selada. Alguns sistemas requerem que água seja adicionada em uma embalagem contendo compostos químicos antes da jarra ser fechada, como mostrado na **Figura 6.6**, e requerem um catalisador. Os compostos químicos produzem hidrogênio e dióxido de carbono (em torno de 4 a 10%) e removem o oxigênio da jarra por sua combinação, na presença de um catalisador, com hidrogênio para formar água. Em outro sistema disponível comercialmente, a embalagem de compostos químicos (o ingrediente ativo é o ácido ascórbico) é simplesmente aberta para sua exposição ao oxigênio na atmosfera da jarra. Não é necessário o uso de água ou catalisador. A atmosfera nas jarras em geral tem menos que 5% de oxigênio, cerca de 18% de CO_2 e nenhum hi-

Figura 6.6 Uma jarra para cultivar bactérias anaeróbicas em placas de Petri. Quando água é adicionada à embalagem química contendo bicarbonato de sódio e boroidreto de sódio, hidrogênio e dióxido de carbono são gerados. O catalisador de paládio está localizado em uma câmara separada, que também pode ser incorporada na embalagem química, e na sua superfície ocorrerá a reação entre o hidrogênio e o oxigênio do interior da jarra, que combinados formarão água. O oxigênio é assim removido. Na jarra há também um indicador de anaerobiose contendo azul de metileno, que tem a coloração azul quando oxidado, tornando-se incolor quando o oxigênio é removido (como mostrado aqui).

P Qual é o nome técnico das bactérias que requerem uma concentração de CO_2 maior que a atmosférica para seu crescimento?

Figura 6.7 Uma câmara anaeróbica. O técnico está pipetando uma suspensão bacteriana em um frasco dentro da câmara anaeróbica preenchida com um gás inerte livre de oxigênio. Seus braços e mãos estão em luvas. Organismos e materiais entram e saem através de um sistema de transferência visível à esquerda.

P Em que uma câmara anaeróbica é parecida com o Laboratório Espacial que orbita no vácuo do espaço?

drogênio. Em um sistema desenvolvido recentemente, cada placa de Petri (OxyPlate) se transforma em uma câmara anaeróbica. O meio na placa contém uma enzima, a oxirase, que combina o oxigênio com o hidrogênio, removendo o oxigênio à medida que água é formada.

Os laboratórios que realizam muitos trabalhos com anaeróbicos com frequência utilizam uma câmara anaeróbica, como a mostrada na **Figura 6.7**. A câmara é preenchida com gases inertes (geralmente cerca de 85% N_2, 10% H_2 e 5% CO_2) e equipada com sistemas de transferência para a introdução e a retirada de culturas e materiais.

Técnicas especiais de cultura

Muitas bactérias nunca foram cultivadas com sucesso em meios artificiais de laboratório. *Mycobacterium leprae*, o bacilo da lepra, geralmente é crescido em tatus, pois eles têm uma temperatura corporal relativamente baixa que atende às necessidades do micro-organismo. Outro exemplo é a espiroqueta da sífilis, ainda que algumas linhagens não patogênicas desses micro-organismos tenham crescido em meio de laboratório. Com poucas exceções, as bactérias intracelulares obrigatórias, como riquétsias e clamídias, não crescem em meios artificiais. Como os vírus, elas somente podem se reproduzir em célula hospedeira viva. Veja a discussão sobre cultura de células, página 378.

Muitos laboratórios clínicos têm *estufas de dióxido de carbono* especiais para o crescimento de bactérias aeróbicas que requerem concentrações de CO_2 mais altas ou mais baixas que a encontrada na atmosfera. Os níveis desejados de CO_2 são mantidos por controles eletrônicos. Níveis de CO_2 elevados também são obtidos com uma simples *jarra com vela*. As culturas são colocadas em uma jarra grande selada contendo uma vela acesa que consome o oxigênio. A vela apaga quando o ar dentro da jarra tem uma concentração baixa de oxigênio (mas ainda suficiente para o crescimento de bactérias aeróbicas). Uma concentração elevada de CO_2 também está presente. Os micro-organismos que crescem melhor em altas concentrações de CO_2 são chamados de **capnofílicos**. As condições de oxigênio baixo e CO_2 alto são similares àquelas encontradas no trato intestinal, no trato respiratório e em outros tecidos corporais onde bactérias patogênicas crescem.

As jarras com velas ainda são utilizadas, mas estão sendo substituídas pelas embalagens comerciais contendo reagentes químicos para a produção de uma atmosfera rica em dióxido de carbono. Quando somente uma ou duas placas de Petri com culturas devem ser incubadas, os pesquisadores de laboratório clínico frequentemente utilizam sacos plásticos com geradores químicos próprios de gás que são ativados por esmagamento do

Figura 6.8 Técnicos em um laboratório de biossegurança de nível 4 (BSL-4). Os profissionais trabalhando em instalações BSL-4 vestem uma "roupa espacial" conectada com um fornecimento de ar externo.

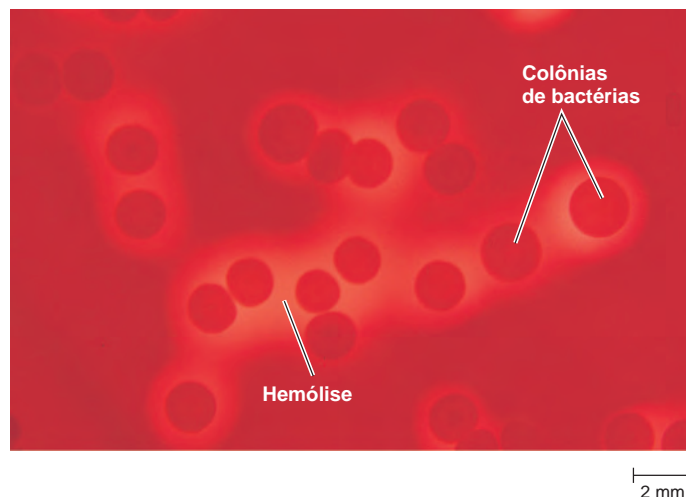
P Se um técnico estava trabalhando com príons patogênicos, como o material que sai do laboratório pode ser tratado para deixar de ser infeccioso?

Figura 6.9 Ágar sangue, um meio diferencial contendo hemácias. As bactérias provocaram a lise das hemácias (β-hemólise), produzindo zonas claras ao redor das colônias.

P Qual é o valor das hemolisinas para os patógenos?

pacote ou adição de alguns mililitros de água. Esses pacotes algumas vezes são desenvolvidos especialmente para fornecer concentrações definidas de dióxido de carbono (em geral maiores que as obtidas em uma jarra de vela) e de oxigênio para o cultivo de organismos como a bactéria microaerofílica *Campylobacter (*página 312).

Alguns micro-organismos são tão perigosos que só podem ser manuseados com sistemas de contenção extremamente complexos chamados de *biossegurança de nível 4* (*BSL-4*, de *Biosafety level 4*). Os laboratórios de nível 4 são popularmente conhecidos com "zonas quentes". Somente alguns desses laboratórios existem nos Estados Unidos. O laboratório é um ambiente selado dentro um prédio grande e tem uma atmosfera com pressão negativa, de modo que aerossóis contendo patógenos não podem escapar. As entradas e as saídas de ar são filtradas com filtros de ar (veja os filtros HEPA na página 191); o ar de saída é duplamente filtrado. Todos os materiais residuais que saem do laboratório são desinfetados. A equipe veste "roupas espaciais", que são conectadas com um fornecimento externo de ar (**Figura 6.8**).

Organismos menos perigosos são manuseados com níveis de biossegurança menores. Por exemplo, um laboratório de aula de microbiologia básica pode ser BSL-1. Os organismos que apresentam um risco moderado de infecção podem ser manuseados em BSL-2, ou seja, em bancadas abertas de laboratório com luvas apropriadas, avental de laboratório e, se necessário, proteção para o rosto e os olhos. Os laboratórios BSL-3 são destinados aos patógenos do ar altamente infecciosos, como o agente da tuberculose. Gabinetes de segurança biológica com aparência similar a de uma câmara anaeróbica, mostrada na Figura 6.7, são utilizados. O laboratório em si pode ter pressão negativa e ser equipado com filtros de ar para evitar a liberação do patógeno.

Meios de cultivo seletivo e diferencial

Na microbiologia clínica ou de saúde pública, frequentemente é necessário detectar a presença de micro-organismos específicos associados com doenças ou saneamento deficiente. Para essa tarefa, meios seletivos e diferenciais são utilizados. Os **meios seletivos** são elaborados para impedir o crescimento de bactérias indesejadas e favorecer o crescimento dos micro-organismos de interesse. Por exemplo, o ágar sulfeto de bismuto é um meio utilizado para isolar a bactéria da tifoide, a gram-negativa *Salmonella typhi*, a partir das fezes. O sulfeto de bismuto inibe as bactérias gram-positivas e a maioria das bactérias intestinais gram-negativas (além de *S. typhi*). O ágar Sabouraud dextrose, com pH de 5,6, é utilizado para isolar os fungos que dominam a maioria das bactérias neste pH.

Os **meios diferenciais** facilitam a diferenciação das colônias de um micro-organismo desejado em relação a outras colônias crescendo na mesma placa. De maneira similar, culturas puras de micro-organismos têm reações identificáveis com meios diferenciais em tubos ou placas. O ágar sangue (que contém hemácias) é um meio utilizado com frequência pelos microbiologistas para identificar espécies bacterianas que destroem hemácias. Essas espécies, como o *Streptococcus pyogenes*, a bactéria que causa infecção de garganta, mostram um anel claro ao redor de suas colônias (β-hemólise, página 319), onde elas têm lisadas as hemácias circundantes (**Figura 6.9**).

Algumas vezes, as características seletivas e diferenciais são combinadas no mesmo meio. Suponha que queremos isolar a bactéria *Staphylococcus aureus*, encontrada comumente nas fossas nasais. Esse organismo é tolerante a altas concentrações de cloreto de sódio; ele também pode fermentar o carboidrato manitol para formar ácido. O ágar hipertônico manitol contém 7,5% de cloreto de sódio, impedindo o crescimento de organismos competidores e, portanto, selecionando ou favorecendo o crescimento de *S. au-*

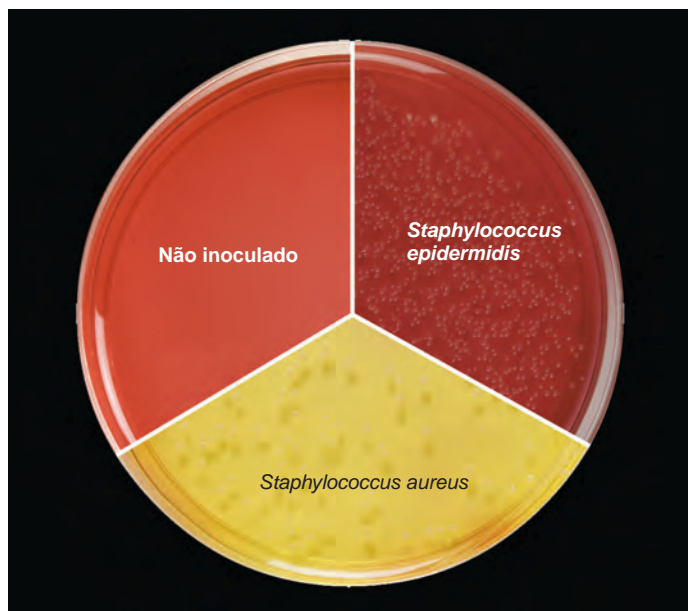



Figura 6.10 **Meio diferencial.** As colônias de bactérias no meio diferencial têm uma aparência diferente. Esse meio é o ágar hipertônico manitol, e as bactérias nas colônias capazes de fermentar o manitol do meio em ácidos levam a uma mudança na coloração. Na realidade, esse meio também é seletivo por causa da alta concentração de sal que previne o crescimento da maioria das bactérias, exceto os *Staphylococcus* spp.

P **As bactérias capazes de crescer em pressão osmótica elevada poderiam crescer no muco encontrado no nariz?**

reus. Esse meio salino também contém um indicador de pH que muda de cor se o manitol do meio é fermentado a ácido; as colônias fermentadoras de manitol de *S. aureus* são assim *diferenciadas das* colônias de bactérias que não fermentam o manitol. As bactérias que crescem em concentração elevada de sal *e* fermentam o manitol podem ser facilmente identificadas pela mudança de coloração (**Figura 6.10**). Provavelmente elas sejam colônias de *S. aureus*, e sua identificação pode ser confirmada por testes adicionais. A utilização de meio diferencial para identificar *E. coli* produtora de toxina é discutida no Capítulo 5, página 139.

Meios de enriquecimento

Como as bactérias em pequeno número podem ser perdidas, em particular se outras bactérias estiverem presentes em maior número, algumas vezes é necessário utilizar uma **cultura de enriquecimento**. Com frequência essa metodologia é empregada com amostras de solo ou fezes. O meio (meio enriquecido) para enriquecer uma cultura geralmente é líquido e fornece nutrientes e condições ambientais que favorecem o crescimento de um micro-organismo específico e não de outros. Nesse sentido, também é um meio seletivo, mas elaborado para amplificar até níveis detectáveis um número muito pequeno do micro-organismo de interesse.

Suponha que queremos isolar de uma amostra de solo um micro-organismo que pode crescer com fenol e que está presente em número menor que outras espécies. Se a amostra de solo é colocada em um meio líquido de enriquecimento no qual o fenol é a única fonte de carbono e energia, os micro-organismos incapazes de metabolizar o fenol não irão crescer. O meio de cultura é incubado durante alguns dias, e então uma pequena quantidade é transferida para outro frasco do mesmo meio. Após uma série de transferências, a população sobrevivente consistirá das bactérias capazes de metabolizar o fenol. As bactérias têm um determinado tempo para crescer no meio entre as transferências; esse é o estágio de enriquecimento (veja o quadro no Capítulo 28, página 801). Qualquer nutriente trazido pelo inóculo original é rapidamente eliminado por diluição com as transferências sucessivas. Quando a última diluição é semeada em um meio sólido com a mesma composição, somente as colônias do organismo capaz de utilizar o fenol poderão crescer. Um aspecto admirável dessa técnica é que o fenol normalmente é letal para a maioria das bactérias.

Tabela 6.5 **Meios de cultura**

Tipo	Finalidade
Quimicamente definido	Crescimento de quimioautotróficos e fotoautotróficos; ensaios microbiológicos.
Complexo	Crescimento da maioria dos organismos quimio-heterotróficos.
Redutor	Crescimento de anaeróbicos obrigatórios.
Seletivo	Supressão de micro-organismos indesejados; favorecimento dos micro-organismos de interesse.
Diferencial	Diferenciação das colônias dos micro-organismos de interesse em relação aos outros.
Enriquecimento	Similar ao meio seletivo, mas elaborado para aumentar o número de micro-organismos de interesse até níveis detectáveis.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Os seres humanos poderiam se desenvolver em um meio quimicamente definido, pelo menos em condições de laboratório? **6-8**
- ✓ Louis Pasteur, nos anos de 1800, poderia ter crescido o vírus da raiva em cultura de células em vez de animais vivos? **6-9**
- ✓ Que nível de BSL o seu laboratório tem? **6-10**

* * *

A **Tabela 6.5** resume os propósitos dos principais tipos de meios de cultura.

Obtenção de culturas puras

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

6-11 Definir colônia.

6-12 Descrever como culturas puras podem ser isoladas pelo método de semeadura por esgotamento.

A maioria dos materiais infecciosos, como pus, escarro e urina, contém diversos tipos de bactérias; da mesma forma que amostras

(a)

(b)

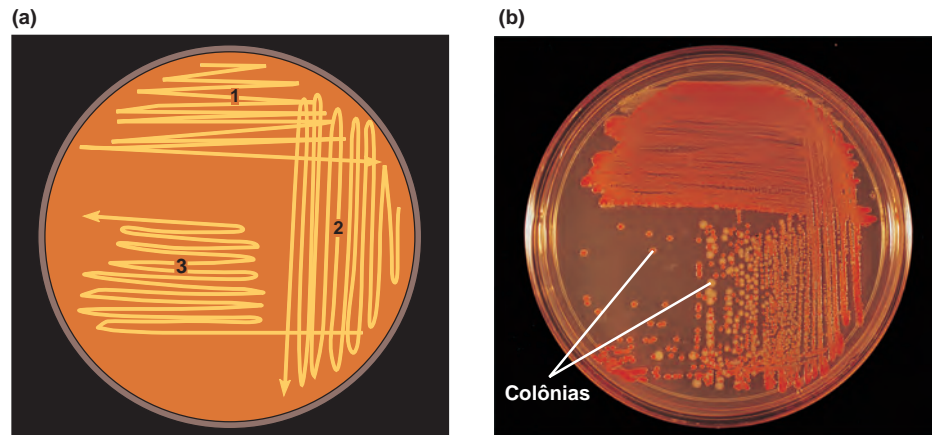



Figura 6.11 **Método de esgotamento utilizado para isolar culturas puras de bactérias.** **(a)** As setas indicam a direção da semeadura por esgotamento. A série de estrias 1 é feita com a cultura bacteriana original. A alça de inoculação é esterilizada após cada série de estrias. Nas séries 2 e 3, a alça retira bactérias da série anterior, reduzindo cada vez mais o número de células. Há inúmeras variações dessa técnica. **(b)** Na série 3, observe que foram obtidas colônias de bactérias bem isoladas de dois tipos diferentes, vermelho e amarelo.

P Uma colônia formada por esgotamento em placa é sempre derivada de uma única bactéria?

de solo, água ou alimento. Quando esses materiais são semeados na superfície de meio sólido, as colônias formam cópias exatas do organismo original. Uma **colônia** visível teoricamente vem de um único esporo ou célula vegetativa ou de um grupo dos mesmos micro-organismos juntos em agregados ou cadeias. As colônias microbianas frequentemente têm aparência diferente, o que permite distinguir um micro-organismo do outro (veja a Figura 6.10). As bactérias devem ser espalhadas de maneira suficientemente ampla na placa para que as colônias possam ser separadas umas das outras.

A maioria dos trabalhos de microbiologia requer culturas puras ou clones da bactéria. O método de isolamento mais comumente utilizado para obter culturas puras é **o método de esgotamento por estrias** (**Figura 6.11**). Uma alça de inoculação estéril é mergulhada dentro de uma cultura mista, que contém mais de um tipo de micro-organismo, e é semeada em estrias na superfície de um meio nutritivo. Ao longo da estria, as bactérias são depositadas quando a alça entra em contato com o meio. As últimas células depositadas na alça são afastadas o suficiente para crescer em colônias isoladas. Essas colônias podem ser repicadas com uma alça de inoculação e transferidas para um tubo de ensaio com meio nutritivo para a obtenção de uma cultura pura contendo somente um tipo de bactéria.

O método de esgotamento por estrias funciona bem quando o organismo a ser isolado está presente em grande número em relação à população total. Contudo, quando o micro-organismo a ser isolado está presente em um número muito pequeno, sua quantidade pode ser aumentada por enriquecimento seletivo antes do isolamento com o método de esgotamento por estrias.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Você pode pensar em alguma razão para uma colônia não crescer infinitamente, ou pelo menos preencher toda uma placa de Petri? **6-11**

✓ Uma cultura pura da bactéria poderia ser obtida pelo método de esgotamento por estrias se tivesse somente um micro-organismo de interesse em uma suspensão de bilhões de bactérias? **6-12**

Preservação de culturas bacterianas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

6-13 Explicar como os micro-organismos são preservados por congelamento em baixas temperaturas e liofilização (congelamento-dessecação).

A refrigeração pode ser utilizada para o armazenamento de culturas bacterianas por curtos períodos. Dois métodos comuns de preservação de culturas microbianas por longos períodos são o congelamento em baixa temperatura e a liofilização. O **congelamento em baixa temperatura** é um processo no qual uma cultura pura de micro-organismos é colocada em um líquido de suspensão e rapidamente congelada em uma faixa de temperatura de –50°C a –95°C. A cultura normalmente pode ser descongelada e cultivada mesmo após vários anos. Durante a **liofilização** (**congelamento-dessecação**), uma suspensão de micro-organismos é rapidamente congelada em uma faixa de temperatura de –54°C a –72°C, e a água é removida por alto vácuo (sublimação). Ainda sob vácuo, o container é selado, derretendo o vidro com uma chama de alta temperatura. O pó obtido desse processo, contendo os micro-organismos sobreviventes, pode ser armazenado por anos. Os organismos podem ser reativados a qualquer momento por hidratação com um meio nutriente líquido apropriado.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Se a Estação Espacial em órbita na Terra sofresse uma ruptura repentina, os humanos a bordo morreriam instantaneamente pelo frio e pelo vácuo do espaço. Todas as bactérias na cápsula também seriam mortas? **6-13**

Crescimento de culturas bacterianas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

6-14 Definir *crescimento bacteriano*, incluindo *fissão binária*.

6-15 Comparar as fases do crescimento microbiano e descrever sua relação com o tempo de geração.

6-16 Explicar quatro métodos diretos de medida do crescimento celular.

6-17 Diferenciar métodos diretos e indiretos na determinação do crescimento celular.

6-18 Explicar três métodos indiretos de medida do crescimento celular.

A possibilidade de representar graficamente as enormes populações resultantes do crescimento de culturas bacterianas é uma parte essencial da microbiologia. A determinação das quantidades de micro-organismos tanto diretamente, por contagem, quanto indiretamente, pela medida de sua atividade metabólica, também é um aspecto importante da microbiologia.

Divisão bacteriana

Como mencionado no início do capítulo, o crescimento bacteriano se refere ao aumento do número de bactérias e não a um aumento no tamanho das células individuais. As bactérias normalmente se reproduzem por **fissão binária** (Figura 6.12).

Algumas espécies bacterianas se reproduzem por **brotamento**; elas formam uma pequena região inicial de crescimento (o broto), que vai se alargando até atingir um tamanho similar ao da célula parental, e então se separam dela. Algumas bactérias filamentosas (certos actinomicetes) se reproduzem pela produção de cadeias de conidiósporos carreados externamente na ponta dos filamentos. Algumas espécies simplesmente se fragmentam, e os fragmentos iniciam o crescimento de novas células.

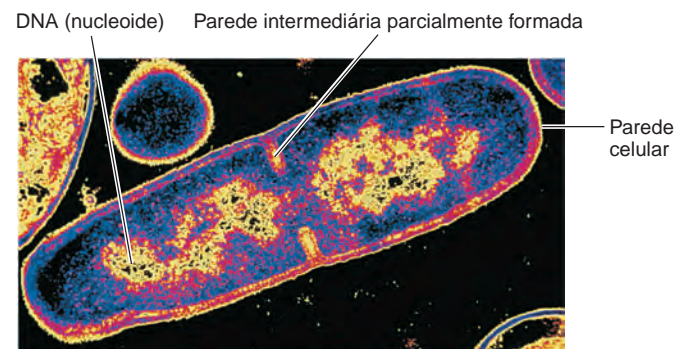
(a) Diagrama da sequência da divisão celular.

(b) Secção ultrafina da célula de *Bacillus licheniformis* iniciando sua divisão.

Figura 6.12 **Fissão binária em bactéria.**

P **Todas as bactérias se reproduzem por fissão binária?**

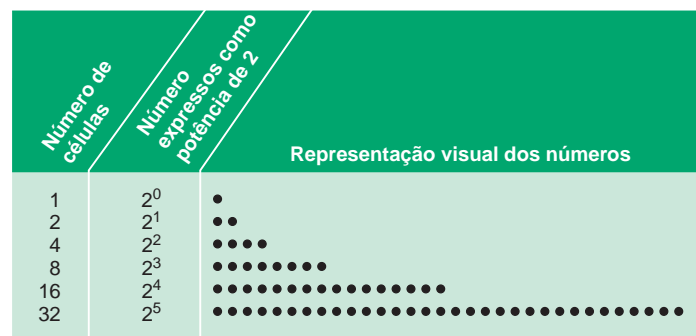
Tempo de geração

Para o cálculo do tempo de geração das bactérias, consideraremos somente a reprodução por divisão binária, que é o método mais comum. Como pode ser analisado na Figura 6.13, a divisão de uma célula produz duas células, a divisão dessas duas células produz quatro células, e assim por diante. Quando o número de células em cada geração é expresso na potência de 2, o expoente reflete o número de duplicações (gerações) que ocorreram.

O tempo necessário para uma célula se dividir (e sua população duplicar) é chamado de **tempo de geração**. Ele varia consideravelmente entre os organismos e com as condições ambientais, como a temperatura. A maioria das bactérias tem um tempo de geração de 1 a 3 horas; outras requerem mais de 24 horas por geração. (O método matemático para calcular os tempos de geração é apresentado no Apêndice B.) Se a fissão binária não é controlada, uma grande quantidade de células será produzida. Se a divisão ocorre a cada 20 minutos, que é o caso da *E. coli* em condições favoráveis, após 20 gerações, uma única célula inicial poderá ter gerado mais de um milhão de células. Esse aumento ocorrerá em cerca de 7 horas. Em 30 gerações, ou 10 horas, a população poderá ser de um bilhão, tendo atingindo um número com 21 zeros em 24 horas. É difícil de representar graficamente variações de populações tão grandes utilizando números aritméticos. Essa é a razão pela qual escalas logarítmicas em geral são utilizadas para representar graficamente o crescimento bacteriano. A compreensão das representações logarítmicas de populações bacterianas requer conhecimento em matemática, que é fundamental para os microbiologistas (veja o Apêndice B).

Representação logarítmica das populações bacterianas

Para ilustrar a diferença entre representação gráfica logarítmica e aritmética de populações bacterianas, analisaremos 20 gerações bacterianas. Em cinco gerações (2^5), haverá 32 células; em dez gera-

Número de células	Número expressos como potência de 2	Representação visual dos números
1	2^0	•
2	2^1	••
4	2^2	••••
8	2^3	••••••••
16	2^4	••••••••••••••••
32	2^5	••••••••••••••••••••••••••••••••

(a) Representação visual do aumento do número de bactérias durante cinco gerações. O número de bactérias dobra a cada geração. O número sobrescrito indica a geração, ou seja, 2^5 = 5 gerações.

Número de gerações	Número de células		Log$_{10}$ do número de células
0	2^0 =	1	0
5	2^5 =	32	1,51
10	2^{10} =	1.024	3,01
15	2^{15} =	32.768	4,52
16	2^{16} =	65.536	4,82
17	2^{17} =	131.072	5,12
18	2^{18} =	262.144	5,42
19	2^{19} =	524.288	5,72
20	2^{20} =	1.048.576	6,02

(b) Conversão do número de células de uma população na expressão logarítmica desse número. Para obter os números da coluna central, utilize a função y^x da sua calculadora. Aperte o 2 e depois y^x; aperte o 5 e depois o sinal =. A calculadora mostrará o número 32. Portanto, a população da quinta geração das bactérias totalizar 32 células. Para obter os números da coluna da direita, utilize a função log da sua calculadora. Aperte o número 32 e depois log. A calculadora mostrará, arredondando, que o $\log_{10}$ de 32 é 1,51.

Figura 6.13 Divisão celular.

P Se uma única bactéria se reproduz a cada 20 minutos, qual o número de bactérias em duas horas?

Figura 6.14 Curva de crescimento para uma população crescendo exponencialmente, representada logarítmica (linha pontilhada) e aritmeticamente (linha cheia). Essa figura demonstra porque, em vista do grande número das populações bacterianas, é necessária a mudança gráfica da representação aritmética para a logarítmica. Por exemplo, observe que, até a décima geração, a curva da representação aritmética ainda não se ergueu de maneira perceptível da linha de base, enquanto a curva logarítmica para a décima geração já está no meio do gráfico.

P Se os valores aritméticos (linha cheia) fossem aplicados para duas gerações suplementares, a curva ainda estaria dentro do gráfico?

ções (2^{10}), serão 1.024 células, e assim sucessivamente. (Utilizando uma calculadora com as funções y^x e log, pode-se duplicar os números da terceira coluna da Figura 6.13.)

Na **Figura 6.14**, observe que a curva utilizando os valores aritméticos (linha cheia) não mostra claramente as mudanças de população nos passos iniciais da curva de crescimento com essa escala. De fato, as dez primeiras gerações permanecem na linha de base. Além disso, a representação de mais uma ou duas outras gerações na mesma forma gráfica aumentaria os valores no eixo de y de modo que acabaria saindo da página.

A linha pontilhada na Figura 6.14 mostra como os problemas de representação gráfica podem ser evitados utilizando a representação no $\log_{10}$ dos números das populações. O $\log_{10}$ da população é representado pelas gerações 5, 10, 15 e 20. Observe que uma linha reta é obtida e que populações mil vezes maiores (1.000.000.000 ou $\log_{10}$ 9,0) ainda poderiam ser acomodadas em um pequeno espaço complementar. Contudo, essa vantagem é obtida ao custo de uma distorção da nossa percepção *intuitiva* da real situação. Não estamos acostumados a raciocinar em termos de relações logarítmicas, mas elas são necessárias para uma compreensão apropriada dos gráficos das populações microbianas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Um organismo complexo, como um besouro, pode se dividir por fissão binária? **6-14**

Fases do crescimento

Quando algumas bactérias são inoculadas em um meio líquido de crescimento e a população é contada em intervalos regulares, é possível representar graficamente a **curva de crescimento bacteriano**, que mostra o crescimento das células em função do tempo (**Figura 6.15**). Há quatro fases básicas de crescimento: a fase lag, a fase log, a fase estacionária e a fase de morte celular.

Figura 6.15

FIGURA FUNDAMENTAL A curva de crescimento bacteriano

O conceito da curva de crescimento bacteriano é fundamental para entendermos a dinâmica das populações e o controle durante, por exemplo, a preservação ou a deterioração de alimentos, a microbiologia industrial, como a produção de etanol, e o curso e o tratamento de doenças infecciosas.

A fase lag

Durante um certo tempo, o número de células muda pouco, pois elas não se reproduzem imediatamente em um novo meio. Esse período de pouca ou nenhuma divisão é chamado de **fase lag**, podendo durar de uma hora a vários dias. Durante esse tempo, contudo, as células não estão dormentes. A população microbiana passa por um período de intensa atividade metabólica, envolvendo principalmente a síntese de enzimas e várias moléculas. (A situação é análoga a uma usina sendo equipada para produzir automóveis, ou seja, há atividade de preparação, mas não há produção imediata de automóvel.)

A fase log

Finalmente, as células começam a se dividir e entram em um período de crescimento, ou aumento logarítmico, chamado de **fase log** ou **fase exponencial de crescimento**. A reprodução celular é mais ativa durante esse período, e o tempo de geração atinge um valor constante. Como o tempo de geração é constante, uma representação logarítmica do crescimento durante a fase log gera uma linha reta. A fase log é o momento de maior atividade metabólica, sendo o preferido para fins industriais, pois o produto precisa ser produzido de maneira eficiente.

A fase estacionária

Se a fase de crescimento continua sem controle, ocorre a formação de um grande número de células. Por exemplo, uma única bactéria (com peso de 9,5 x 10^{-13}g por célula) se dividindo a cada 20 minutos por somente 25,5 horas pode teoricamente produzir uma população equivalente em peso a de um avião de carga de 80.000 toneladas. Na realidade, isso não ocorre. No final do crescimento, a velocidade de reprodução se reduz, o número de mortes microbianas é equivalente ao número de células novas, e a população se estabiliza. Esse período de equilíbrio é chamado de **fase estacionária**.

A causa da interrupção do crescimento exponencial não é sempre clara. O esgotamento dos nutrientes, o acúmulo de resíduos e mudanças no pH danosas à célula podem ser os motivos.

A fase de morte celular

O número de mortes finalmente ultrapassa o número de células novas formadas, e a população entra na **fase de morte** ou **declínio logarítmico**. Essa fase continua até que a população tenha diminuído para uma pequena fração da população da fase anterior ou morre totalmente. Algumas espécies passam por toda a sequência de fases em somente poucos dias; outras mantêm algumas células sobreviventes indefinidamente. A morte microbiana será discutida no Capítulo 7.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Se um casal de camundongos inicia uma reprodução em uma gaiola com um fornecimento de alimento fixo, a sua curva de população é similar a uma curva de crescimento bacteriano? **6-15**

Medida direta do crescimento microbiano

O crescimento de populações microbianas pode ser medido de diversas maneiras. Alguns métodos medem o número de células, outros medem a massa total da população, que muitas vezes é proporcional ao número de células. A quantificação de uma população normalmente é registrada como o número de células por mililitro de líquido ou grama de material sólido. Como as populações bacterianas geralmente são muito grandes, a maioria dos métodos de contagem tem como base enumerações diretas ou indiretas de amostras pequenas; um cálculo determina depois o tamanho total da população. Vamos assumir, por exemplo, que um milionésimo de mililitros (10^{-6} mL) de leite azedo contém 70 bactérias. Portanto, deve existir 70 vezes mais células, ou 70 milhões de células por mililitro.

No entanto, não é prático medir em um milionésimo de mililitro ou de grama de alimento. Assim, o procedimento é feito indiretamente em uma série de diluições. Por exemplo, se adicionamos 1 mL de leite em 99 mL de água, cada mililitro dessa diluição terá um centésimo das bactérias que um mililitro da amostra original tinha. Realizando uma série de diluições, podemos rapidamente estimar o número de bactérias da amostra original. Para contar as populações microbianas em alimentos sólidos (como um hambúrguer), uma parte do alimento será misturada com nove partes de água formando um homogenado. Amostras da diluição inicial de 100 vezes podem ser transferidas com uma pipeta para diluições posteriores ou contagem de células.

Contagem em placas

O método utilizado com mais frequência para medir populações bacterianas é a **contagem em placas**. Uma grande vantagem desse método é que ele mede o número de células viáveis. Uma desvantagem é que são necessárias 24 horas ou mais para que colônias visíveis sejam formadas. Isso pode ser um problema sério para certas aplicações, como o controle de qualidade do leite, quando não é possível manter um lote do produto durante esse tempo.

As contagens em placas consideram que cada bactéria viva cresce e se divide para produzir uma única colônia. Isso não é sempre verdadeiro, pois as bactérias frequentemente crescem unidas em agregados ou cadeias (veja a Figura 4.1, página 78). Portanto, uma colônia muitas vezes resulta não de uma única bactéria, mas de um curto fragmento de uma cadeia ou de um agregado bacteriano. Para refletir essa realidade, as contagens em placas muitas vezes são denominadas **unidades formadoras de colônias** (**UFC**).

Quando uma contagem em placas é feita, é importante que somente um número limitado de colônias se desenvolva na placa. Quando muitas colônias estão presentes, algumas células são reprimidas e não podem se desenvolver. Obviamente, isso não produz uma placa adequada para contagem; essas condições causam imprecisão na contagem. Uma recomendação da Food and Drug Administration é a contagem de placas com somente 25 a 250 colônias, mas muitos microbiologistas preferem placas com 30 a 300 colônias. Para assegurar que algumas contagens de colônias estejam nessa faixa, o inóculo inicial é diluído várias vezes, em um processo chamado de **diluição seriada** (**Figura 6.16**).

Diluições seriadas. Digamos, por exemplo, que uma amostra de leite tem 10.000 bactérias por mililitro. Se 1 mL dessa amostra fosse semeado em placa, teoricamente 10.000 colônias deveriam se formar no meio da placa de Petri. Obviamente, isso não produziria uma placa contável. Se 1 mL dessa amostra fosse transferido para um tubo contendo 9 mL de água estéril, cada mililitro do fluido dentro do tubo conteria 1.000 bactérias. Se 1 mL dessa amostra fosse inoculado em uma placa de Petri, ainda teriam colônias demais na placa para a realização da contagem. Portanto, outra diluição deveria ser feita. Um mililitro contendo 1.000 bactérias deveria ser transferido para um segundo tubo de 9 mL de água. Cada mililitro nesse tubo conterá agora somente 100 bactérias, e se 1 ml do conteúdo do tubo fosse inoculado em placa, 100 colônias potenciais seriam formadas, um número facilmente contável.

Incorporação em placas a espalhamento em placas. A contagem em placas é feita pelo método de incorporação em placas ou pelo método de espalhamento em placas. O método de **incorporação em placas** segue o procedimento mostrado na **Figura 6.17a**. Um mililitro ou 0,1 mL das diluições da suspensão bacteriana é introduzido em uma placa de Petri. O meio nutritivo, no qual o ágar é mantido líquido por aquecimento em banho-maria a 50°C, é vertido sobre a amostra, que é então misturada com o meio por agitação lenta da placa. Quando o ágar solidifica, a placa é incubada. Com a técnica de incorporação em placas, as colônias crescerão tanto dentro do ágar nutriente (a partir de células que ficaram em suspensão no meio nutritivo assim que o ágar solidificou) quanto na superfície da placa de ágar.

Essa técnica tem algumas desvantagens, pois alguns micro-organismos relativamente sensíveis ao calor podem ser danificados pelo ágar fundido, sendo incapazes de formar colônias. Além disso, quando certos meios diferenciais são utilizados, a aparência diferenciada da colônia na superfície é essencial para diagnóstico. As colônias que se formam abaixo da superfície de uma placa por incorporação não são adequadas para esses testes. Para evitar esses problemas, o **método de espalhamento em placas** frequentemente é utilizado (**Figura 6.17b**). Um inóculo de 0,1 mL é adicionado à superfície de um meio de ágar previamente solidificado. O inóculo

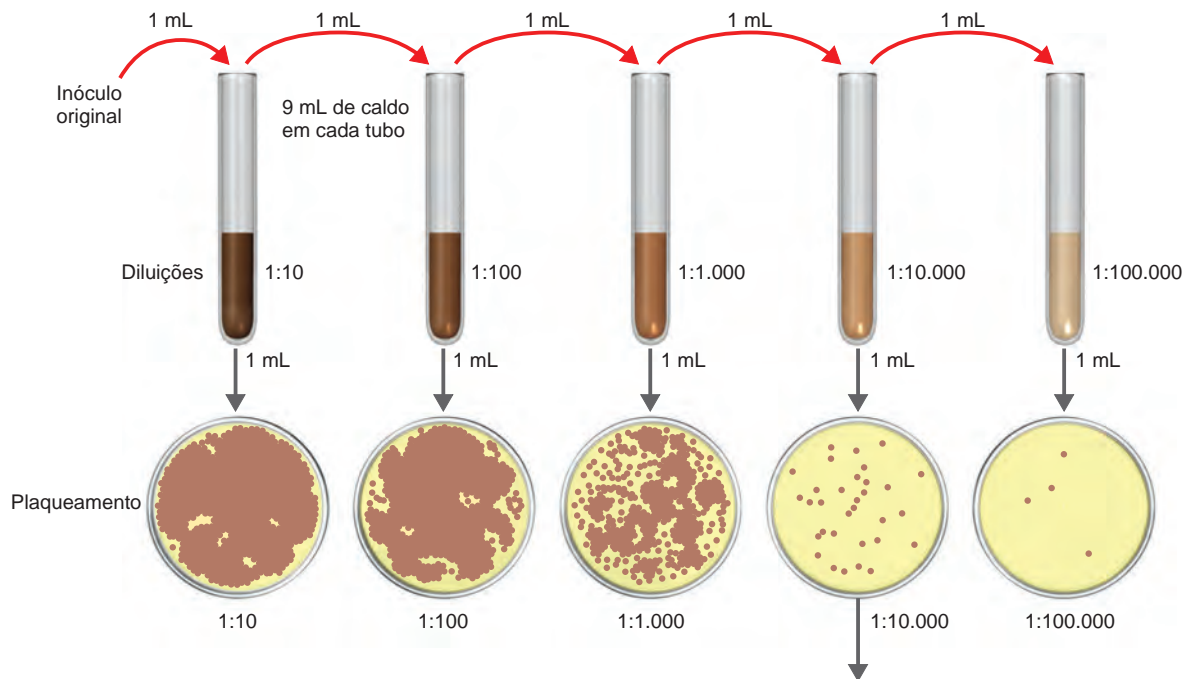



Figura 6.16 **Diluições seriadas e contagens em placas.** Nas diluições seriadas, o inóculo original é diluído em uma série de tubos de diluições. Nesse exemplo, cada tubo de diluição subsequente tem apenas um décimo do número de células microbianas do tubo anterior. Posteriormente, amostras de todas as diluições são utilizadas para inocular placas de Petri, nas quais as colônias crescem e podem ser contadas. Essa contagem é então utilizada para estimar o número de bactérias na amostra original.

P **Por que as diluições 1:1.000 e 1:100.000 não foram contadas? Teoricamente, quantas colônias deveriam aparecer na placa 1:1.000?**

é então espalhado de modo uniforme na superfície do meio com um bastão de vidro em L esterilizado. Esse método espalha todas as colônias na superfície e evita o contato entre as células e o ágar fundido.

Filtração

Quando a quantidade de bactérias é muito pequena, como em lagos ou correntes de água relativamente puras, as bactérias podem ser contadas pelo método de **filtração** (**Figura 6.18**). Nessa técnica, pelo menos 100 mL de água passam através de uma membrana filtrante fina com poros estreitos o suficiente para não deixar que as bactérias passem, ficando assim retidas na superfície do filtro. Esse filtro é transferido para uma placa de Petri contendo um suporte embebido em um meio líquido nutriente, que permite que as colônias se desenvolvam a partir das bactérias retidas na superfície do filtro. Esse método é aplicado frequentemente para a detecção e o registro de bactérias coliformes, que são indicadoras de contaminação fecal em alimento ou água (veja o Capítulo 27). As colônias formadas por essas bactérias podem ser identificadas quando um meio nutritivo diferencial é utilizado (as colônias mostradas na Figura 6.18b são exemplos de coliformes).

O método do número mais provável

Outro método para determinar o número de bactérias em uma amostra é o **método do número mais provável** (**MNP**), ilustrado na **Figura 6.19**. Essa técnica estatística tem como base o seguinte princípio: quanto maior o número de bactérias em uma amostra, maior será o número de diluições necessárias para reduzir a densidade até um ponto no qual mais nenhuma bactéria esteja presente nos tubos de diluição seriada. O MNP é utilizado quando os micro-organismos não crescem em um meio sólido (como as bactérias quimioautotróficas nitrificantes). Também é prático quando o crescimento de bactérias em um meio líquido diferencial é utilizado para identificar micro-organismos (como bactérias coliformes em água, que fermentam seletivamente lactose produzindo ácido. O mnp fornece somente uma estimativa de 95% de probabilidade de a população bacteriana estar em uma faixa determinada e que o MNP obtido é estatisticamente o número mais provável.

Contagem microscópica direta

No método conhecido como **contagem microscópica direta**, um volume conhecido de uma suspensão bacteriana é colocado em uma área definida da lâmina microscópica. Por considerações de

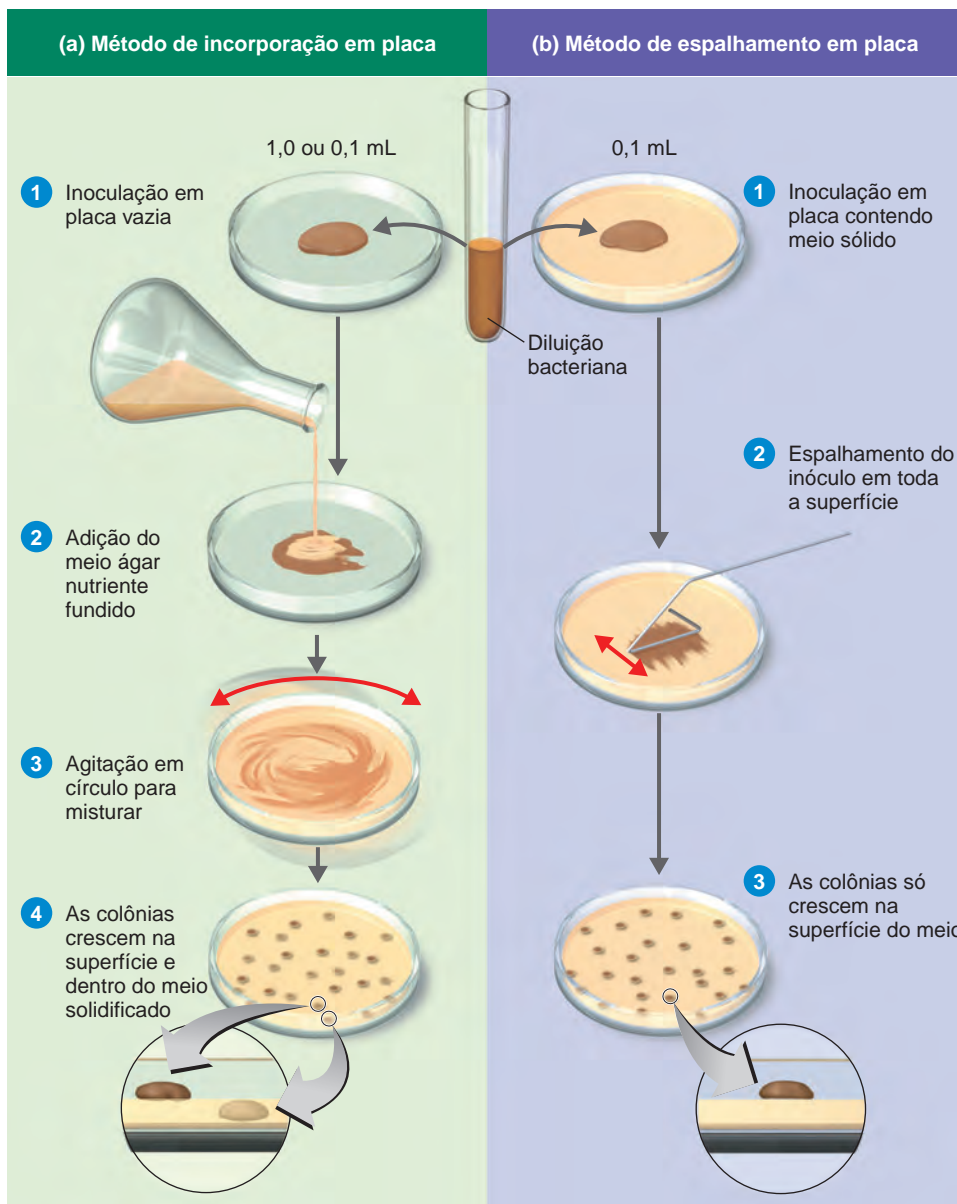



Figura 6.17 Métodos de preparação das placas para contagem. **(a)** Método de incorporação em placa. **(b)** Método de espalhamento em placa.

P Quais são as vantagens de cada método?

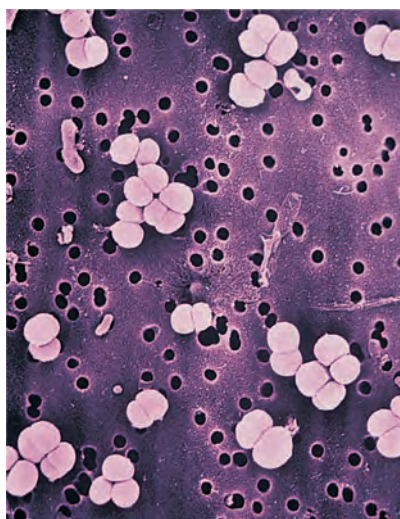
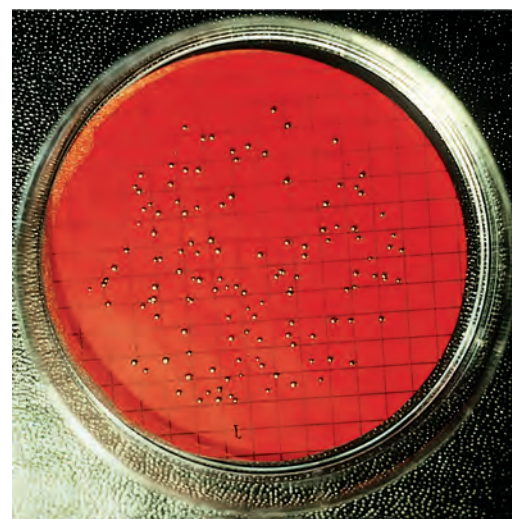
tempo, esse método frequentemente é utilizado para contar bactérias no leite. Uma amostra de 0,01 mL é espalhada em uma superfície de um centímetro quadrado da lâmina, um corante é adicionado para visualizar a bactéria, e a amostra é observada com óleo de imersão. Deve ser determinada a área de observação de cada região da lâmina. Após a contagem de diferentes regiões da lâmina, a média do número de bactérias por campo observado pode ser calculada. A partir desses resultados, o número de bactérias no centímetro quadrado contendo a amostra também pode ser calculado. Como essa área da lâmina continha 0,01 mL, o número de bactérias em cada mililitro da suspensão é o número de bactérias na amostra multiplicado por 100.

Uma lâmina especialmente desenvolvida chamada de *contador de células Petroff-Hausser* também é utilizado para contagens microscópicas diretas (**Figura 6.20**).

As bactérias móveis são difíceis de ser contadas com esse método e, como acontece com outros métodos microscópicos, as células mortas acabam sendo contadas como as vivas. Outra desvantagem é que é necessária uma concentração de células bastante elevada para permitir uma contagem satisfatória – em torno de um milhão de bactérias por mililitro. A maior vantagem das contagens microscópicas é que um tempo de incubação não é requerido, e elas geralmente são reservadas para situações nas quais o tempo é essencial. Esse é o caso dos *contadores de células eletrônicos*, também conhecidos como *contadores Coulter*, que contam automaticamente o número de células em um volume líquido determinado.

Esses instrumentos são utilizados em alguns laboratórios de pesquisa e em hospitais.

Figura 6.18 **Contagem de bactérias por filtração.**

P **Poderia ser realizada uma contagem por incorporação em uma placa de Petri comum com um inóculo de 10 mL? Se não, por quê?**

(a) As bactérias em 100 mL de água são retidas na superfície da membrana de filtro. Observe que os poros no filtro são menores que as bactérias.

(b) Um filtro como o mostrado na foto (a), com as bactérias bastante espalhadas, foi colocado sobre um suporte saturado com o meio líquido Endo, que é utilizado para enumeração de coliformes. As bactérias individuais cresceram como colônias visíveis. Foram contadas 124 colônias visíveis, sendo, portanto, possível estimar que existiam 124 bactérias em 100 mL da amostra de água.

Volume de inóculo para cada grupo de cinco tubos	Tubos de meio nutriente (Grupo de cinco tubos)	Número de tubos positivos por grupo
10 mL		5
1 mL		3
0,1 mL		1

(a) Série de diluições do método do número mais provável (MNP). Neste exemplo, são apresentados três grupos de tubos, cada grupo contendo cinco tubos. Cada tubo do primeiro grupo de cinco tubos recebe 10 mL do inóculo, como uma amostra de água. Cada tubo do segundo grupo de cinco tubos recebe 1 mL da amostra, e do terceiro grupo, 0,1 mL cada. Existiam bactérias o suficiente na amostra para que todos os cinco tubos do primeiro grupo apresentassem crescimento bacteriano, sendo considerados positivos. No segundo grupo, que recebeu somente um décimo do inóculo inicial, apenas três tubos foram positivos. No terceiro grupo, que recebeu um centésimo do inóculo inicial, somente um tubo foi positivo.

Combinação de tubos positivos	Índice de MNP/100 mL	Limites com 95% de confiabilidade	
		Inferior	Superior
4-2-0	22	6.8	50
4-2-1	26	9.8	70
4-3-0	27	9.9	70
4-3-1	33	10	70
4-4-0	34	14	100
5-0-0	23	6.8	70
5-0-1	31	10	70
5-0-2	43	14	100
5-1-0	33	10	100
5-1-1	46	14	120
5-1-2	63	22	150
5-2-0	49	15	150
5-2-1	70	22	170
5-2-2	94	34	230
5-3-0	79	22	220
5-3-1	110	34	250
5-3-2	140	52	400

(b) A tabela do MNP. A tabela do MNP nos permite calcular para uma amostra o número de micro-organismo que estatisticamente são os mais prováveis de terem levado aos resultados obtidos. O número de tubos positivos é anotado para cada grupo: no exemplo sombreado, os tubos 5, 3 e 1. Se levarmos essa combinação para a tabela do MNP, concluiremos que o índice do MNP para 100 mL é 110. Estatisticamente, isso significa que 95% das amostras de água que apresentaram esse resultado contêm entre 34 e 250 bactérias, com 110 sendo o número mais provável.

Figura 6.19 **Método do número mais provável (MNP).**

P **Em quais circunstâncias o MNP é utilizado para determinar o número de bactérias em uma amostra?**

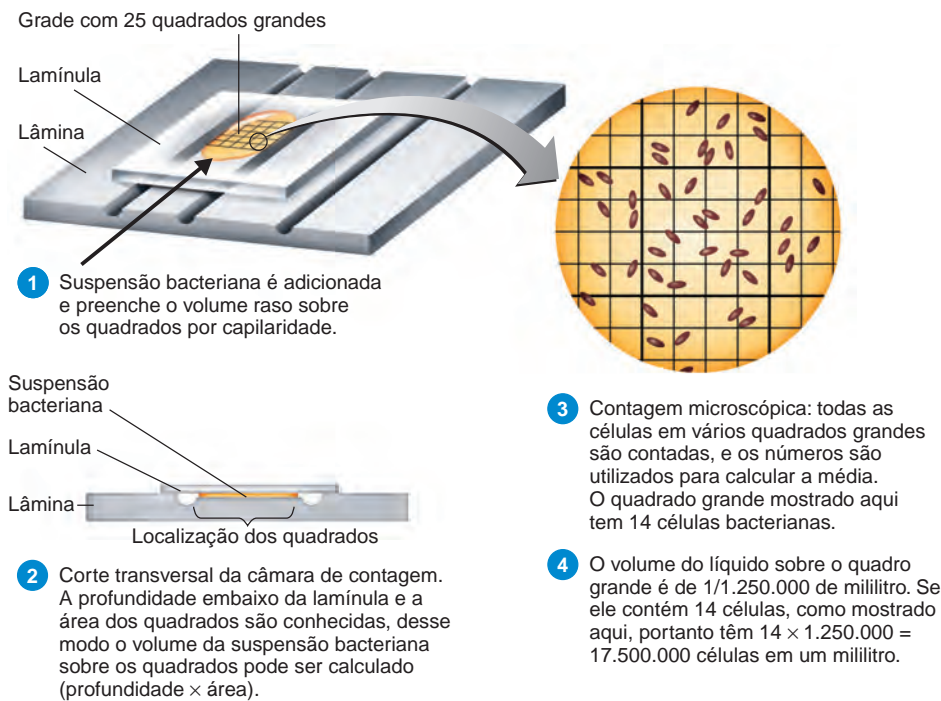



Figura 6.20 Contagem microscópica direta de bactérias com uma câmara de contagem Petroff-Hausser. O número médio de células no quadrado grande multiplicado pelo fator 1.250.000 fornece o número de bactérias por mililitro.

P Esse tipo de contagem, apesar das suas desvantagens óbvias, frequentemente é utilizado para estimar a população bacteriana em laticínios. Por quê?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que é difícil medir de maneira realista o crescimento de um fungo micelial pelo método de contagem em placas? **6-16**

Determinação do número de bactérias por métodos indiretos

Não é sempre necessário contar as células microbianas para estimar seu número. Na pesquisa e na indústria, o número e a atividade dos micro-organismos também são determinados por alguns dos métodos seguintes.

Turbidimetria

Para alguns tipos de experimentos, estimar a **turbidimetria** é uma maneira de monitorar o crescimento bacteriano. À medida que as bactérias se multiplicam em um meio líquido, o meio se torna turvo ou opaco com as células.

O instrumento utilizado para medir a turdidez é um *espectrofotômetro* (ou colorímetro). No espectrofotômetro, um feixe de luz passa através de uma suspensão de bactérias até um detector fotossensível (**Figura 6.21**). Com o aumento do número de bactérias, menos luz atingirá o detector. Essa alteração da luz será registrada na escala do instrumento como *porcentagem de transmissão*. Também será registrada a expressão logarítmica chamada de *absorbância* (algumas vezes denominada *densidade ótica*, ou DO, que é calculada como Abs = 2 – log de % da transmissão). A absorbância é utilizada para representar graficamente o crescimento bacteriano. Quando as bactérias estão em crescimento logarítmico ou em declínio, o gráfico da absorbância em função do tempo será uma linha quase reta. Se as leituras de absorbância forem combinadas com contagens em placas da mesma cultura, essa correlação poderá ser utilizada para estimativas futuras do número de bactérias obtidas pela medida de turbidimetria.

Mais de um milhão de células por mililitro devem estar presentes para que os primeiros sinais de turdidez sejam visíveis. Em torno de 10 milhões a 100 milhões de células por mililitro são necessários para que uma suspensão seja turva o suficiente para possibilitar uma leitura no espectrofotômetro. Portanto, a turbidimetria não é uma medida útil de contaminação de líquidos por um número relativamente pequeno de bactérias.

Atividade metabólica

Outra maneira indireta de estimar o número de bactérias é medir a *atividade metabólica* de uma população. Esse método assume que a quantidade de um produto metabólico determinado, como um ácido ou CO_2, é diretamente proporcional ao número de bactérias presentes. Um exemplo de aplicação prática de um teste metabólico é o ensaio microbiológico no qual a produção de ácido é utilizada para determinar quantidades de vitaminas.

Peso seco

Para bactérias e fungos filamentosos, os métodos comuns de medida são menos satisfatórios. Uma contagem em placas não poderia medir esse aumento em massa micelial. Nas contagens em placas de actinomicetes (veja a Figura 11.22, página 321) e fungos, o número de esporos assexuados é mais frequentemente contado como alternativa, mas essa não é uma boa medida do crescimento. Uma das melhores maneiras de medir o crescimento de organismos filamentosos é pelo *peso seco*. Nesse procedimento, o fungo é removido do meio de crescimento, filtrado para remover outros materiais e seco em dissecador, sendo então pesado. Para bactérias, o mesmo procedimento básico é seguido.

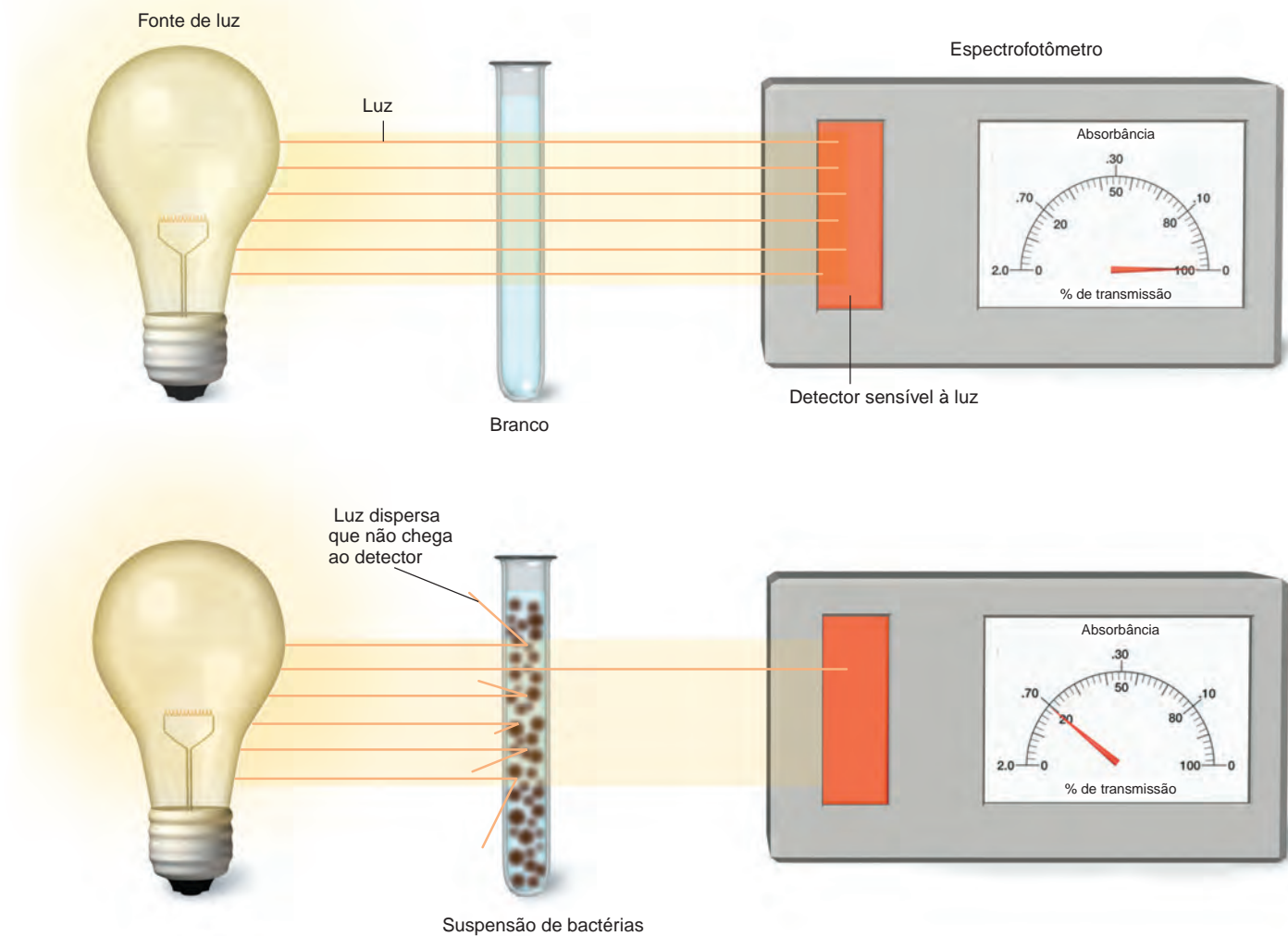



Figura 6.21 Determinação do número de bactérias por turbidimetria. A quantidade de luz que chega ao detector sensível à luz no espectrofotômetro é inversamente proporcional ao número de bactérias sob condições padronizadas. Quanto menos luz é transmitida, mais bactérias estão presentes na amostra. A turbidez da amostra pode ser expressa como sendo de 20% de transmissão ou de 0,7 de absorbância. As leituras de absorbância são uma função logarítmica e algumas vezes úteis para a realização de um gráfico.

P A turbidimetria é um método direto ou indireto de medir o crescimento bacteriano?

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Métodos diretos geralmente requerem um tempo de incubação para obter colônias. Por que isso não é sempre viável para a análise de alimentos? **6-17**
- ✓ Se não existe um método adequado para analisar a quantidade de vitamina de um produto, qual então seria o melhor método para determinar essa quantidade? **6-18**

Você adquiriu um conhecimento básico sobre os fatores para o crescimento microbiano e como ele pode ser medido. No Capítulo 7, analisaremos como este crescimento é controlado em laboratórios, hospitais, indústrias e em nossas casas.

RESUMO PARA ESTUDO

Fatores necessários para o crescimento

(p. 157-162)

1. O crescimento de uma população é o aumento do número de células.
2. Os fatores para o crescimento microbiano são físicos e químicos.

Fatores físicos (p. 157-160)

3. De acordo com as faixas de temperatura preferidas, os micro-organismos são classificados como psicrófilos (vivem em baixas temperaturas), mesófilos (vivem em temperaturas moderadas) e termófilos (vivem em altas temperaturas).
4. A temperatura mínima de crescimento é a temperatura mais baixa que permite o crescimento da espécie; a temperatura ótima de crescimento é aquela em que o organismo melhor se reproduz; a temperatura máxima de crescimento é a maior temperatura em que o crescimento é possível.
5. A maioria das bactérias cresce melhor em valores de pH entre 6,5 e 7,5.
6. Em uma solução hipertônica, a maioria dos micro-organismos sofre plasmólise; os halofílicos podem tolerar concentrações elevadas de sais.

Fatores químicos (p. 160-162)

7. Todos os organismos requerem uma fonte de carbono; os quimio-heterotróficos utilizam uma molécula orgânica e os autotróficos em geral utilizam o dióxido de carbono.
8. O nitrogênio é necessário para a síntese de proteínas e ácidos nucleicos. Ele pode ser obtido da decomposição de proteínas ou de NH^{4+} ou NO_3^-; algumas bactérias são capazes de fixar nitrogênio (N_2).
9. De acordo com as necessidades de oxigênio, os organismos são classificados como aeróbicos obrigatórios, anaeróbicos facultativos, anaeróbicos obrigatórios, anaeróbicos aerotolerantes e microaerofílicos.
10. Aeróbicos, anaeróbicos facultativos e anaeróbicos aerotolerantes devem conter as enzimas superóxido-dismutase $2\ O^{2-} + 2\ H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ e catalase ($2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$) ou peroxidase ($H_2O_2 + 2\ H^+ \rightarrow 2\ H_2O$).
11. Outros compostos químicos requeridos para o crescimento microbiano incluem enxofre, fósforo, elementos traços e, para alguns micro-organismos, fatores de crescimento orgânicos.

Biofilmes (p. 162, 163)

1. Os micro-organismos aderem-se a superfícies e acumulam-se na forma de biofilme nas superfícies sólidas em contato com a água.
2. Os biofilmes se formam nos dentes, nas lentes de contato e nos cateteres.
3. Os micro-organismos nos biofilmes são mais resistentes aos antibióticos que os micro-organismos de vida livre.

Meio de cultura (p. 164-169)

1. Um meio de cultura é qualquer material preparado para o crescimento de bactérias no laboratório.
2. Os micro-organismos que crescem e se multiplicam na superfície ou dentro de um meio de cultura são conhecidos como cultura.
3. O ágar é um agente solidificante comum utilizado nos meios de cultura.

Meio quimicamente definido (p. 165)

4. Um meio quimicamente definido é aquele cuja composição química exata é conhecida.

Meio complexo (p. 165)

5. Um meio complexo é aquele cuja composição química exata varia levemente de um lote para outro.

Meios e métodos para o crescimento anaeróbico

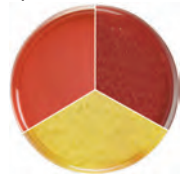
(p. 166, 167)

6. Os meios redutores removem quimicamente o oxigênio molecular (O_2), que poderia interferir com o crescimento de anaeróbicos.
7. Placas de Petri podem ser incubadas em jarras anaeróbicas, câmaras anaeróbicas ou OxyPlate.

Técnicas especiais de cultura (p. 167, 168)

8. Algumas bactérias parasitas ou fastidiosas devem ser cultivadas em animais vivos ou culturas de células.
9. Incubadores de CO_2 ou jarras com vela são utilizados para o crescimento de bactérias que requerem uma concentração elevada de CO_2.
10. Procedimentos e equipamentos para minimizar a exposição a micro-organismos patogênicos são classificados com níveis de 1 a 4.

Meios de cultivo seletivo e diferencial (p. 168, 169)

11. Por inibição de micro-organismos indesejados com sais, corantes ou outros compostos químicos, os meios seletivos permitem o crescimento somente dos micro-organismos de interesse.
12. Os meios diferenciais são utilizados para distinguir micro-organismos diferentes.

Meio de enriquecimento (p. 169)

13. Uma cultura de enriquecimento é utilizada para favorecer o crescimento de um micro-organismo específico em uma cultura mista.

Obtenção de culturas puras

(p. 169, 170)

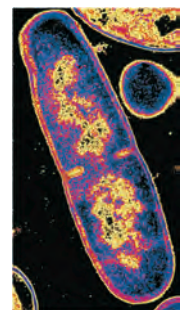
1. Uma colônia é uma massa visível de células microbianas teoricamente originadas de uma célula.
2. Culturas puras normalmente são obtidas pelo método de semeadura em placa.

Preservação de culturas bacterianas (p. 170)

1. Os micro-organismos podem ser preservados durante longos períodos por congelamento em baixa temperatura ou liofilização (congelamento-dessecação).

Crescimento de culturas bacterianas (p. 171-179)

Divisão bacteriana (p. 171)

1. O método normal de reprodução das bactérias é a fissão binária, na qual uma única célula se divide dando origem a duas células idênticas.

2. Algumas bactérias se reproduzem por brotamento, formação de esporos aéreos ou fragmentação.

Tempo de geração (p. 171)

3. O tempo requerido para uma célula se dividir ou uma população duplicar de tamanho é conhecido como tempo de geração.

Representação logarítmica das populações bacterianas (p. 171, 172)

4. A divisão bacteriana ocorre conforme uma progressão logarítmica (duas células, quatro células, oito células, etc.).

Fases do crescimento (p. 172-174)

5. Durante a fase lag, ocorre pouca ou nenhuma alteração no número de células, mas a atividade metabólica é intensa.
6. Durante a fase log, as bactérias se multiplicam em alta velocidade, considerado as condições fornecidas pelo meio.
7. Durante a fase estacionária, há um equilíbrio entre a divisão e a morte celular.
8. Durante a fase de morte celular, o número de mortes excede o número de novas células formadas.

Medida direta do crescimento microbiano (p. 174-178)

9. O método-padrão de contagem em placas reflete o número de micro-organismos viáveis e assume que cada bactéria se desenvolve em uma colônia; as contagens em placas são expressas como os números de unidades formadoras de colônias (UFCs).
10. Uma contagem em placas pode ser feita pelos métodos de incorporação em placa ou espalhamento em placa.
11. Na filtração, bactérias são retidas na superfície de uma membrana filtrante e posteriormente transferidas para um meio de cultura para crescimento e contagem.
12. O método do número mais provável (MNP) pode ser utilizado para micro-organismos que crescem em meio líquido; é uma determinação estatística.
13. Na contagem microscópica direta, os micro-organismos em um determinado volume de uma suspensão bacteriana são contados com a utilização de uma lâmina especialmente desenvolvida.

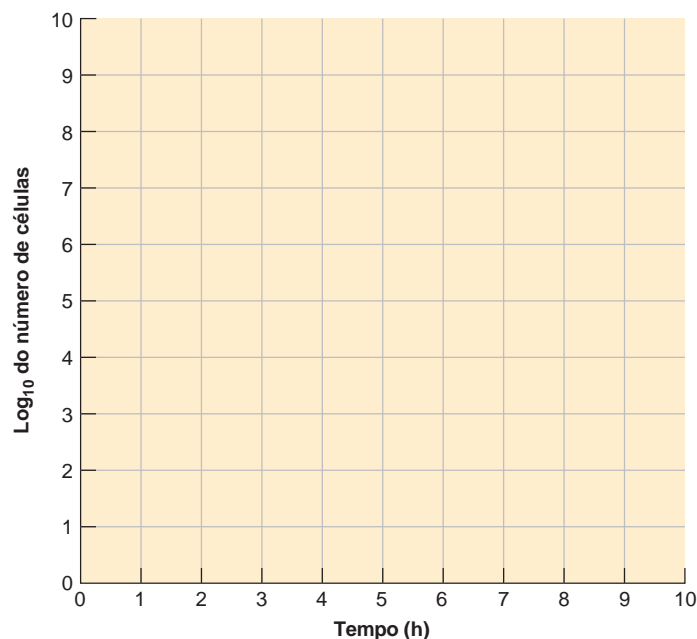
Determinação do número de bactérias por métodos indiretos (p. 178, 179)

14. Um espectrofotômetro é utilizado na determinação da turbidez pela medida da quantidade de luz que atravessa uma suspensão de células.
15. Uma maneira indireta de estimar o número de bactérias é a medida da atividade metabólica da população (p. ex., a produção de ácido ou o consumo de oxigênio).
16. Para organismos filamentosos, como fungos, a medida do peso seco é um método conveniente de determinação do crescimento.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

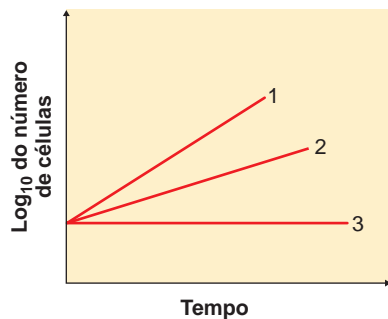
Revisão

1. Descreve a fissão binária.
2. Os macronutrientes (necessários em quantidades relativamente maiores) com frequência são citados como CHONPS. O que cada uma dessas letras significa e por que esses elementos são necessários para a célula?
3. Defina e explique a importância de cada um dos itens seguintes:
   a. Catalase.
   b. Peróxido de hidrogênio.
   c. Peroxidase.
   d. Radical peróxido.
   e. Superóxido-dismutase.
4. Sete métodos de medida do crescimento microbiano foram explicados neste capítulo. Classifique cada um como sendo direto ou indireto.
5. Por congelamento em baixa temperatura, as bactérias podem ser armazenadas sem danos durante longos períodos. Por que a refrigeração e o congelamento preservam os alimentos?
6. Um padeiro inoculou acidentalmente uma torta de creme com seis células de *S. aureus*. Se *S. aureus* tem um tempo de geração de 60 minutos, quantas células estarão na torta de creme após sete horas?
7. A adição de nitrogênio e o fósforo em praias após um derramamento de óleo favorece o crescimento de bactérias que degradam naturalmente o óleo. Explique por que essas bactérias não crescem se o nitrogênio e o fósforo não são adicionados.
8. Diferencie os meios complexos e quimicamente definidos.
9. **DESENHE** Desenhe as seguintes curvas de crescimento para *E. coli,* começando com 100 células e apresentando um tempo de geração de 30 minutos a 35ºC, 60 minutos a 20ºC e 3 horas a 5ºC.
   a. As células são incubadas durante cinco horas a 35ºC.
   b. Após cinco horas, a temperatura muda para 20ºC durante duas horas.
   c. Após cinco horas a 35ºC, a temperatura muda para 5ºC durante duas horas e posteriormente para 35ºC durante cinco horas.

Múltipla escolha

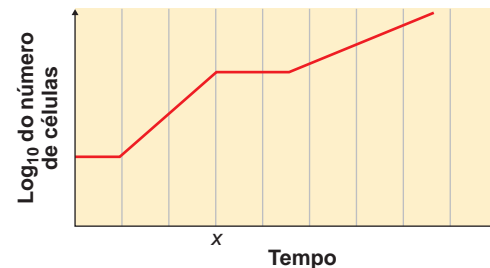
Utilize a informação a seguir para responder as questões 1 e 2. Dois meios de cultura foram inoculados com quatro bactérias diferentes. Após a incubação, os seguintes resultados foram obtidos:

Organismo	Meio 1	Meio 2
Escherichia coli	Colônias vermelhas	Sem crescimento
Staphylococcus aureus	Sem crescimento	Crescimento
Staphylococcus epidermidis	Sem crescimento	Crescimento
Salmonella enterica	Colônias incolores	Sem crescimento

1. O meio de cultura 1 é:
   a. Seletivo.
   b. Diferencial.
   c. Seletivo e diferencial.
2. O meio de cultura 2 é:
   a. Seletivo.
   b. Diferencial.
   c. Seletivo e diferencial.

Utilize o gráfico a seguir para responder às questões 3 e 4:

3. Qual das retas representa melhor a fase log de um termofílico incubado a temperatura ambiente?
4. Qual das retas representa melhor a fase log de *Listeria monocytogenes* crescendo no corpo humano?
5. Considere que você inoculou 100 células anaeróbicas facultativas em um ágar nutriente e incubou a placa aerobicamente. Você então inoculou 100 células da mesma espécie em um nutriente ágar e incubou a segunda placa anaerobicamente. Após incubação durante 24 horas deverá ocorrer o aparecimento de:
   a. Mais colônias na placa aeróbica.
   b. Mais colônias na placa anaeróbica.
   c. O mesmo número de colônias em ambas as placas.
6. O termo *elementos traços* se refere:
   a. Aos elementos CHONPS.
   b. Às vitaminas.
   c. Ao nitrogênio, ao fósforo e ao enxofre.
   d. Às pequenas quantidades requeridas de minerais.
   e. Às substâncias tóxicas.
7. Qual das temperaturas a seguir causaria a morte de um mesofílico?
   a. −50 ºC.
   b. 0 ºC.
   c. 9 ºC.
   d. 37 ºC.
   e. 60 ºC.
8. Qual das seguintes características não é de um biofilme?
   a. Resistência a antibiótico.
   b. Hidrogel.
   c. Deficiência em ferro.
   d. *Quorum sensing*.
9. Qual dos seguintes tipos de meio não poderia ser utilizado para cultivar aeróbicos?
   a. Meio seletivo.
   b. Meio redutor.
   c. Meio de enriquecimento.
   d. Meio diferencial.
   e. Meio complexo.
10. Um organismo que tem peroxidase e superóxido-dismutase, mas não tem catalase é um:
   a. Aeróbico.
   b. Anaeróbico aerotolerante.
   c. Anaeróbico obrigatório.

Pensamento crítico

1. *E. coli* foi incubada com aeração em um meio nutritivo contendo duas fontes de carbono, gerando a curva de crescimento representada a seguir.
   a. Explique o que aconteceu no tempo marcado com x.
   b. Qual substrato forneceu as melhores condições de crescimento para a bactéria? Como podemos explicar?

2. *Clostridium* e *Streptococcus* são ambos-catalase negativos. *Streptococcus* cresce por fermentação. Por que somente *Clostridium* é morto pelo oxigênio, enquanto *Streptococcus* é capaz de sobreviver?
3. A maioria dos meios de laboratório contém carboidratos fermentáveis e peptona, pois a maior parte das bactérias requer carbono, nitrogênio e fontes de energia nessas formas. Como essas três necessidades são supridas em um meio mínimo contendo sais e glicose? (*Dica*: veja a Tabela 6.2.)
4. O frasco A contém células de levedura em um caldo mínimo com sais e glicose incubado a 30ºC com aeração. O frasco B contém células de levedura em um caldo mínimo de meio com sais e glicose incubado a 30ºC em uma jarra anaeróbica. As leveduras são anaeróbicas facultativas.
   a. Qual cultura produziu mais ATP?
   b. Qual cultura produziu mais álcool?
   c. Qual cultura teve o tempo de geração mais curto?
   d. Qual cultura teve a maior massa celular?
   e. Qual cultura teve a maior absorbância?

Aplicações clínicas

1. Considere que, após lavar as mãos, você deixou dez células bacterianas em uma barra nova de sabonete. Então você decide fazer uma contagem em placa do sabonete após ele ter ficado na saboneteira por 24 horas. Você diluiu 1 g do sabonete $1:10^6$ e semeou essa diluição em uma placa de ágar padrão para contagem. Após 24 horas de incubação, foram contadas 169 colônias. Quantas bactérias existiam no sabonete? Como foram parar lá?
2. Lâmpadas de aquecimento normalmente são utilizadas em lanchonetes para manter os alimentos em uma temperatura de cerca de 50ºC

durante até 12 horas. O seguinte experimento foi conduzido para determinar se essa prática apresenta risco para a saúde.

Pedaços de carne foram inoculados na sua superfície com 500.000 células bacterianas e incubados a 43 a 53ºC para a determinação do limite de temperatura para o crescimento bacteriano. Os resultados seguintes foram obtidos com métodos-padrão de contagem em placas feitas com os pedaços de carne 6 e 12 horas após a inoculação.

		Bactérias por grama de carne após	
	Temperatura	**6 H**	**12 H**
Staphylococcus aureus	43	140.000.000	740.000.000
	51	810.000	59.000
	53	650	300
Salmonella typhimurium	43	3.200.000	10.000.000
	51	950.000	83.000
	53	1.200	300
Clostridium perfringens	43	1.200.000	3.600.000
	51	120.000	3.800
	53	300	300

Desenhe a curva de crescimento para cada organismo. Que temperatura é recomendada? Considerando que a temperatura de cozimento mata as bactérias, como essas bactérias poderiam contaminar os alimentos cozidos? Qual doença cada um desses organismos causa? (*Dica*: veja o Capítulo 25.)

3. O número de bactérias em amostras de saliva foi determinado por coleta da saliva, realização de diluições seriadas e inoculação em ágar nutriente pelo método de incorporação em placa. As placas foram incubadas aerobicamente durante 48 horas a 37ºC.

	Bactérias por mL de saliva	
	Antes de uma antissepsia bucal	**Após uma antissepsia bucal**
Produto 1	$13{,}1 \times 10^6$	$10{,}9 \times 10^6$
Produto 2	$11{,}7 \times 10^6$	$14{,}2 \times 10^5$
Produto 3	$9{,}3 \times 10^5$	$7{,}7 \times 10^5$

O que podemos concluir a partir desses dados? Todas as bactérias presentes em cada amostra de saliva cresceram?

7 Controle do Crescimento Microbiano

O controle científico do crescimento microbiano começou somente há cerca de 100 anos. Lembre--se do Capítulo 1 que o trabalho de Pasteur sobre os micro-organismos levou os cientistas a acreditarem que os micróbios seriam uma possível causa de doenças. Na metade do século XIX, o médico húngaro Ignaz Semmelweis e o médico inglês Joseph Lister utilizaram essa ideia em algumas das primeiras práticas de controle microbiano para procedimentos médicos. Essas práticas incluíam a lavagem das mãos com hipoclorito de cálcio, que matava os micro-organismos, e a utilização de técnicas de **cirurgia assépticas** para impedir a contaminação microbiana de feridas cirúrgicas. Até aquele momento, as infecções adquiridas em hospital, ou infecções nosocomiais, eram a causa de morte em pelo menos 10% dos casos cirúrgicos, e as mortes de parturientes chegavam a 25%. A ignorância a respeito dos micro-organismos era tanta que, durante a Guerra Civil Americana, um cirurgião poderia limpar seu bisturi na sola de sua bota, entre as incisões.

No último século, os cientistas continuaram a desenvolver uma série de métodos físicos e agentes químicos para controlar o crescimento microbiano. No Capítulo 20, discutiremos os métodos para o controle dos micro-organismos após a infecção ter ocorrido, principalmente a antibioticoterapia.

SOB O MICROSCÓPIO

Bactérias presas em uma membrana filtrante (note os dois poros presentes na figura).

P&R

A filtração pode ser usada para remover micro-organismos de água e de soluções. Em qual situação este é o único método prático para a eliminação de micro-organismos indesejáveis?

Procure pela resposta neste capítulo.

A terminologia do controle microbiano

OBJETIVO DO APRENDIZADO

7-1 Definir os seguintes termos-chave relacionados ao controle microbiano: esterilização, desinfecção, antissepsia, degerminação, sanitização, biocida, germicida, bacteriostase e assepsia.

Um termo frequentemente usado, e mal empregado, ao discutir o controle do crescimento microbiano é a *esterilização.* **Esterilização** é a remoção ou destruição de *todas as formas* de vida microbiana. Os príons, no entanto, são altamente resistentes a todos os modos de esterilização (veja a página 203), o que na prática requer a modificação deste termo (mesmo que ainda não estabelecido). Portanto, a definição de *esterilização* em geral considera a ausência de príons. O aquecimento é o método mais comum usado para matar micro-organismos, incluindo as formas mais resistentes, como os endosporos. Agentes utilizados em processos de esterilização são denominados **esterilizantes**. Líquidos ou gases podem ser esterilizados por filtração.

As pessoas pensam que os alimentos enlatados à venda em supermercados são completamente estéreis. Na realidade, o tratamento com calor requerido para assegurar a esterilidade absoluta iria degradar o alimento desnecessariamente. Em vez disso, os alimentos são submetidos somente ao calor suficiente para destruir os endosporos de *Clostridium botulinum,* que pode produzir uma toxina mortal. Esse tratamento limitado de calor é denominado **esterilização comercial.** Os endosporos de uma série de bactérias termofílicas, capazes de causar deterioração dos alimentos, mas não doença em humanos, são consideravelmente mais resistentes ao calor que C. *botulinum*. Se estiverem presentes, irão sobreviver, mas sua sobrevivência normalmente não tem consequência prática; eles não crescerão nas temperaturas normais de armazenamento do alimento. Se os enlatados de um supermercado fossem incubados em temperaturas na faixa de crescimento dessas termófilas (acima de 45°C), uma grande quantidade de alimentos iria se deteriorar.

A esterilização completa muitas vezes não é necessária em outras situações. Por exemplo, as defesas normais do corpo podem lidar com alguns micro-organismos que penetram em uma ferida cirúrgica. Um copo ou um garfo em um restaurante necessita apenas de um controle microbiano suficiente para prevenir a transmissão de micro-organismos possivelmente patogênicos de uma pessoa para outra.

O controle voltado para a destruição de micro-organismos nocivos é denominado **desinfecção**. Este termo normalmente refere-se à destruição de patógenos na forma vegetativa (não formadores de endosporos), o que não é o mesmo que esterilidade completa. Processos de desinfecção podem ser realizados com o uso de substâncias químicas, radiação ultravioleta, água fervente ou vapor. Na prática, o termo é mais comumente aplicado ao uso de um produto químico (um *desinfetante)* para tratar uma superfície ou substância inerte. Quando esse tratamento é dirigido a tecidos vivos, é denominado **antissepsia**, e o produto químico é então denominado *antisséptico.* Assim, na prática, uma mesma substância química pode ser denominada um desinfetante para um determinado uso e um antisséptico para outro. É claro que muitos produtos apropriados para lavar uma mesa, por exemplo, seriam muito agressivos para serem usados sobre tecidos vivos.

Existem variações da desinfecção e da antissepsia. Por exemplo, quando alguém precisa receber uma injeção, a pele é limpa com álcool – o processo de **degerminação**, que resulta principalmente na remoção mecânica, em vez da morte, da maioria dos micro-organismos em uma área limitada. Os copos, as louças e os talheres dos restaurantes estão sujeitos à **sanitização**, que tem a finalidade de reduzir as contagens microbianas a níveis seguros de saúde pública e minimizar as chances de transmissão de doença de um usuário para outro. Isso normalmente é obtido por lavagem em altas temperaturas ou, no caso das louças em um bar, lavagem em uma pia seguida por imersão em um desinfetante químico.

A **Tabela 7.1** resume a terminologia relacionada ao controle do crescimento microbiano.

Tabela 7.1 Terminologia relacionada ao controle do crescimento microbiano

	Definição	Comentários
Esterilização	Destruição ou remoção de todas as formas de vida microbiana, incluindo os endosporos, possivelmente com exceção dos príons.	Normalmente realizada com vapor sob pressão ou um gás esterilizante, como o óxido de etileno.
Esterilização comercial	Tratamento de calor suficiente para matar os endosporos de *Clostridium botulinum* em alimentos enlatados.	Os endosporos mais resistentes de bactérias termófilas podem sobreviver, mas não irão germinar e crescer sob condições normais de armazenamento.
Desinfecção	Destruição de patógenos na forma vegetativa.	Pode fazer uso de métodos físicos ou químicos.
Antissepsia	Destruição de patógenos na forma vegetativa em tecidos vivos.	O tratamento é quase sempre por antimicrobianos químicos.
Degerminação	Remoção de micro-organismos de uma área limitada, como a pele ao redor do local da aplicação de uma injeção.	Basicamente uma remoção mecânica feita com algodão embebido em álcool.
Sanitização	Tratamento destinado a reduzir as contagens microbianas nos utensílios alimentares a níveis seguros de saúde pública.	Pode ser feita por meio de lavagem em altas temperaturas ou imersão em um desinfetante químico.

Os nomes dos tratamentos que causam a morte direta dos micro-organismos possuem o sufixo *-cida*, significando morte. Um **biocida** ou **germicida** mata os micro-organismos (geralmente com algumas exceções, como os endosporos); um *fungicida* mata os fungos; um *viricida* inativa os vírus; e assim por diante. Outros tratamentos somente inibem o crescimento e a multiplicação de bactérias; seus nomes têm o sufixo *-stático* ou *-stase,* significando parar ou diminuir, como na **bacteriostase**. Uma vez que um agente bacteriostático é removido, o crescimento é retomado.

Sepse, do termo grego para estragado ou podre, indica contaminação bacteriana, como nas fossas sépticas para tratamento de esgoto. (O termo também é usado para descrever uma condição de doença; veja o Capítulo 23, página 639.) *Asséptico* significa que um objeto ou área está livre de patógenos. Lembre-se do Capítulo 1 que **assepsia** é a ausência de contaminação significativa. Técnicas assépticas são importantes em cirurgia para minimizar a contaminação dos instrumentos, da equipe cirúrgica e do paciente.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A definição comum de *esterilização* é a remoção ou destruição de todas as formas de vida microbiana; quais seriam as exceções práticas para esta simples definição? **7-1**

A taxa de morte microbiana

OBJETIVO DO APRENDIZADO

7-2 Descrever os padrões de morte microbiana ocasionada pelos tratamentos com agentes de controle microbiano.

Quando as populações bacterianas são aquecidas ou tratadas com substâncias químicas antimicrobianas, elas normalmente morrem em uma taxa constante. Por exemplo, suponha que uma população de um milhão de micro-organismos foi tratada por um minuto e 90% da população morreram. Restam agora 100 mil micro-organismos. Se a população é tratada por mais um minuto, 90% *daqueles* micro-organismos morrem, e restam 10 mil sobreviventes. Em outras palavras, para cada minuto que o tratamento é aplicado, 90% da população restante morrem (**Tabela 7.2**).

Tabela 7.2 Taxa de morte microbiana: exemplo

Tempo (min)	Mortes por minuto	Número de sobreviventes
0	0	1.000.000
1	900.000	100.000
2	90.000	10.000
3	9.000	1.000
4	900	100
5	90	10
6	9	1

Se a curva de mortalidade é representada logaritmicamente, observa-se que a taxa de morte é constante, como demonstrado pela linha reta na **Figura 7.1a**.

Vários fatores influenciam a efetividade dos tratamentos antimicrobianos:

- O *número de micro-organismos.* Quanto mais micro-organismos existem no início, mais tempo é necessário para eliminar a população inteira (**Figura 7.1b**).
- *Influências ambientais.* A presença de matéria orgânica frequentemente inibe a ação dos antimicrobianos químicos. Em hospitais, a presença de matéria orgânica como sangue, vômito ou fezes influencia a seleção de desinfetantes. Micro-organismos em biofilmes sobre superfícies (veja a página 162) são mais difíceis de serem atingidos com eficiência pelos biocidas. Uma vez que sua atividade é condicionada a reações químicas dependentes de temperatura, os desinfetantes agem melhor em condições climáticas mais quentes.

  A natureza do meio de suspensão também é um fator importante no trata mento com calor. Gorduras e proteínas são especialmente protetoras, e um meio rico nessas substâncias protege os micro-organismos que, dessa forma, terão uma taxa de sobrevivência maior. O calor também é muito mais eficiente sob condições ácidas.
- *Tempo de exposição.* Os antimicrobianos químicos frequentemente requerem exposição prolongada para que os micro-organismos ou endosporos mais resistentes sejam afetados. Veja a discussão sobre tratamentos equivalentes na página 191.
- *Características microbianas.* A seção que conclui este capítulo discute como as características microbianas interferem na escolha dos métodos de controle químicos e físicos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como é possível que uma solução contendo um milhão de bactérias não demore mais tempo para ser esterilizada que uma solução contendo meio milhão de bactérias? **7-2**

Ações dos agentes de controle microbiano

OBJETIVO DO APRENDIZADO

7-3 Descrever os efeitos dos agentes de controle microbiano sobre as estruturas celulares.

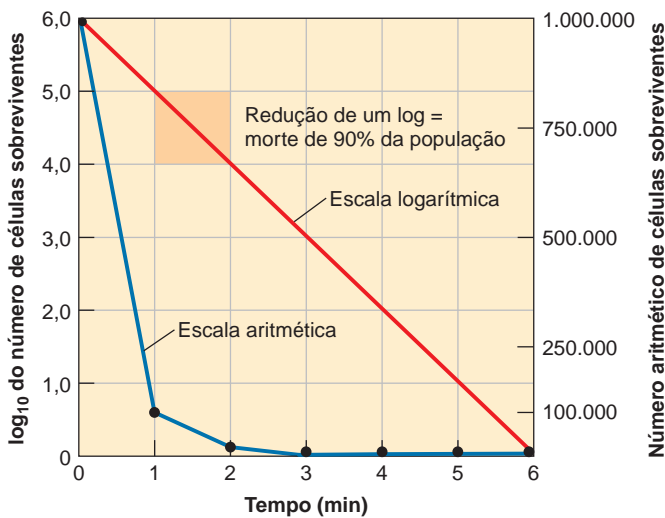
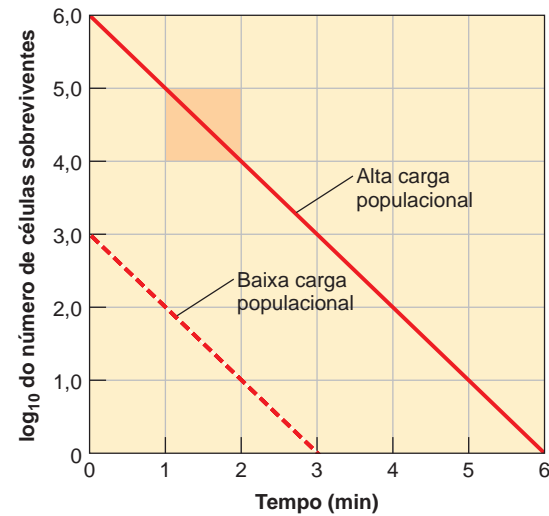
Nesta seção, examinaremos os modos como vários agentes matam ou inibem os micro-organismos.

Alteração na permeabilidade da membrana

A membrana plasmática de um micro-organismo (veja a Figura 4.14, página 90), localizada no interior da parede celular, é o alvo de muitos agentes de controle microbiano. Essa membrana regula ativamente a passagem de nutrientes para o interior da célula e a eliminação celular de dejetos. Danos aos lipídeos ou proteínas da membrana plasmática por agentes antimicrobianos causam o extravasamento do conteúdo celular no meio circundante e interferem no crescimento da célula.

Figura 7.1

FIGURA FUNDAMENTAL Uma curva de morte microbiana

O conceito de uma curva de morte para populações microbianas, incluindo os elementos de tempo e tamanho da população inicial, é especialmente útil na preservação de alimentos e na esterilização de meios de cultura ou materiais médicos.

(a) Os dados são plotados logarítmica (linha vermelha) e aritmeticamente (linha azul). Este gráfico foi construído de modo que as escalas logarítmica e aritmética coincidam em dois pontos: em uma célula e em 1 milhão de células. Neste exemplo, as células estão morrendo a uma taxa constante de 90% a cada minuto. Note que a tentativa de plotar a população de forma aritmética não é prática; aos três minutos, a população de 1.000 células seria apenas um centésimo da distância gráfica entre 100.000 e a linha de base. Números logarítmicos são necessários para demonstrar adequadamente esta situação em gráficos, mesmo com nossa percepção simplificada da situação.

(b) Efeito da alta ou baixa carga microbiana inicial. Se a taxa de morte for constante, será necessário um maior tempo para matar todos os indivíduos de uma população maior que os de uma menor. Isto é verdade tanto para os tratamentos que usam calor quanto para os químicos.

Conceito-chave

É necessário usar números logarítmicos para a construção efetiva de gráficos de populações microbianas. Curvas de morte logarítmicas podem demonstrar, por exemplo, os efeitos do tamanho inicial da população no tempo necessário para atingir a esterilidade.

Danos às proteínas e aos ácidos nucleicos

As bactérias algumas vezes são vistas como "pequenos sacos de enzimas". As enzimas, que são principalmente proteínas, são vitais para todas as atividades celulares. Lembre-se de que as propriedades funcionais das proteínas resultam de sua forma tridimensional (veja a Figura 2.15, página 46). Essa forma é mantida por ligações químicas que unem as porções adjacentes da cadeia de aminoácidos onde ela se dobra sobre si mesma. Algumas dessas ligações são ligações de hidrogênio, que são suscetíveis ao rompimento pelo calor ou por certos produtos químicos; o rompimento resulta em desnaturação da proteína. As ligações covalentes, que são mais fortes, também estão sujeitas ao ataque. Por exemplo, as pontes dissulfeto, que desempenham um papel importante na estrutura das proteínas ao unir os aminoácidos com grupos sulfidrila expostos (–SH), podem ser rompidas por certos produtos químicos ou calor suficiente.

Os ácidos nucleicos DNA e RNA são os transportadores da informação genética celular. Danos a esses ácidos nucleicos por calor, radiação ou substâncias químicas frequentemente são letais para a célula, que não pode mais se replicar, nem realizar funções metabólicas normais como a síntese de enzimas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Um agente químico de controle microbiano que afeta a membrana plasmática de micro-organismos também é capaz de afetar os humanos? **7-3**

Métodos físicos de controle microbiano

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

7-4 Comparar a efetividade do calor úmido (fervura, autoclave, pasteurização) e calor seco.

7-5 Descrever como a filtração, as baixas temperaturas, a alta pressão, a dessecação e a pressão osmótica suprimem o crescimento microbiano.

7-6 Explicar como a radiação mata as células.

Já na Idade da Pedra, é provável que os seres humanos utilizassem algum método físico de controle microbiano para preservar os alimentos. A secagem (dessecação) e o uso do sal (pressão osmótica) provavelmente estiveram entre as técnicas iniciais.

Ao selecionar métodos de controle microbiano, deve-se considerar os efeitos desses métodos sobre outras coisas, além dos micro-organismos. Por exemplo, certas vitaminas ou antibióticos em uma solução podem ser inativados pelo calor. Muitos materiais de laboratório ou hospitalares, como as sondas de borracha e látex, são danificados por ciclos repetidos de aquecimento. Existem também considerações econômicas; por exemplo, pode ser mais barato usar instrumentos plásticos pré-esterilizados, descartáveis, do que lavar e reesterilizar repetidamente objetos de vidro.

Calor

Uma visita a qualquer supermercado demonstrará que a preservação pelo uso de calor em alimentos enlatados representa um dos métodos mais comuns de conservação de alimentos. Meios de cultura e vidrarias de laboratório, assim como muitos instrumentos hospitalares, também são normalmente esterilizados pelo calor. O calor aparentemente mata os micro-organismos pela desnaturação de suas enzimas, que resulta em mudanças na forma tridimensional dessas proteínas, inativando-as (veja a Figura 5.6, página 119).

A resistência ao calor varia entre diferentes micro-organismos; estas diferenças podem ser expressas pelo conceito de ponto de morte térmica. O **ponto de morte térmica** (**PMT**) é a menor temperatura em que todos os micro-organismos em uma suspensão líquida específica serão mortos em 10 minutos.

Outro fator a ser considerado na esterilização é o tempo requerido para o material se tornar estéril. Esse período é expresso como **tempo de morte térmica** (**TMT**), o tempo mínimo em que todas as bactérias em uma cultura líquida específica serão mortas, em uma dada temperatura. Ambos o PMT e o TMT são orientações úteis, que indicam a severidade do tratamento necessário para matar uma dada população de bactérias.

O **tempo de redução decimal** (**TRD**, ou *valor* D) é o terceiro conceito relacionado à resistência bacteriana ao calor. TRD é o tempo, em minutos, em que 90% de uma população de bactérias em uma dada temperatura serão mortas (na Tabela 7.2 e na Figura 7.1a, o TRD é 1 minuto). No Capítulo 28, você irá encontrar uma aplicação importante do TRD para a indústria de enlatados. Veja a discussão sobre o tratamento 12D em alimentos enlatados no Capítulo 28.

Esterilização por calor úmido

O calor úmido mata os micro-organismos principalmente pela coagulação proteica (desnaturação), que é causada pela ruptura de ligações de hidrogênio que mantêm as proteínas em sua estrutura tridimensional. Esse processo de coagulação é familiar a qualquer pessoa que já observou uma clara de ovo fritando.

Um tipo de esterilização por calor úmido é a fervura, que mata as formas vegetativas dos patógenos bacterianos, quase todos os vírus, e os fungos e seus esporos dentro de cerca de 10 minutos, normalmente muito mais rápido. O vapor de fluxo livre (não pressurizado) é equivalente em temperatura à água fervente. Os endosporos e alguns vírus, contudo, não são destruídos tão rapidamente. Alguns tipos de vírus da hepatite, por exemplo, podem sobreviver a até 30 minutos de fervura, e alguns endosporos bacterianos podem resistir à fervura por mais de 20 horas. Desse modo, a fervura nem sempre é um procedimento confiável de esterilização. Contudo, a fervura breve, mesmo em altitudes elevadas, matará a maioria dos patógenos. O uso da fervura para sanitizar mamadeiras de bebê é um exemplo conhecido.

A esterilização confiável com calor úmido requer temperaturas mais elevadas que a da água fervente. Essas temperaturas elevadas são mais comumente obtidas por vapor sob pressão, em uma **autoclave** (**Figura 7.2**). A autoclave é o método preferido de sanitização, a não ser que o material a ser esterilizado possa ser danificado por calor ou umidade.

Quanto maior a pressão na autoclave, maior a temperatura. Por exemplo, quando o vapor de fluxo livre a uma temperatura de 100°C é colocado sob uma pressão de 1 atmosfera acima da pressão ao nível do mar – isto é, cerca de 15 libras de pressão por polegada quadrada (psi) – a temperatura sobe para 121°C. Aumentando a pressão para 20 psi, a temperatura sobe para 126°C. As relações entre temperatura e pressão são mostradas na **Tabela 7.3**.

A esterilização com autoclave é mais eficaz quando os organismos são contatados diretamente pelo vapor ou estão contidos em um pequeno volume de solução aquosa (constituída primariamente por água). Sob essas condições, o vapor a uma pressão em torno de 15 psi (121ºC) matará todos os organismos (com exceção dos príons, veja a página 392) e seus endosporos em cerca de 15 minutos.

A autoclave é um método usado para esterilizar meios de cultura, instrumentos, vestimentas, equipamento intravenoso, aplicadores, soluções, seringas, equipamento de transfusão e diversos outros itens que podem suportar altas temperaturas e pressões. As grandes autoclaves industriais são denominadas *retortas* (veja a Figura 28.2, página 795), mas o mesmo princípio se aplica para a panela de pressão doméstica comum, na produção de conservas caseiras.

O calor requer tempo extra para alcançar o centro de materiais sólidos como as carnes enlatadas, pois esses materiais não desenvolvem correntes de convecção de distribuição de calor eficientes como ocorre nos líquidos. O aquecimento de recipientes grandes também requer tempo extra. A **Tabela 7.4** mostra as exigências de tempo para esterilizar líquidos em recipientes de diferentes tamanhos.

Ao contrário da esterilização de soluções aquosas, a esterilização da superfície de um sólido requer que o vapor realmente entre em contato com ela. Para a esterilização de vidros secos, bandagens e similares, deve-se ter o cuidado de assegurar que o vapor entre em contato com todas as superfícies. Por exemplo, folhas de papel alumínio não são afetadas pelo vapor, e não devem ser usadas para embalar materiais que serão esterilizados; em vez disso, deve-se usar papel comum. Cuidado também é necessário para evitar o aprisionamento de ar no fundo de um recipiente seco, pois o ar aprisionado não será substituído pelo vapor, que é mais leve que o ar. O ar aprisionado é o equivalente a um peque-

Figura 7.2 **Uma autoclave.** O vapor que entra força o ar para fora da parte inferior (setas azuis). A válvula do ejetor automático permanece aberta enquanto uma mistura de ar e vapor está saindo pela tubulação de esgoto. Quando todo o ar tiver sido ejetado, a temperatura mais elevada do vapor puro fecha a válvula, e a pressão na câmara aumenta.

P Como um frasco vazio e destampado deveria ser posicionado para esterilização no interior de uma autoclave?

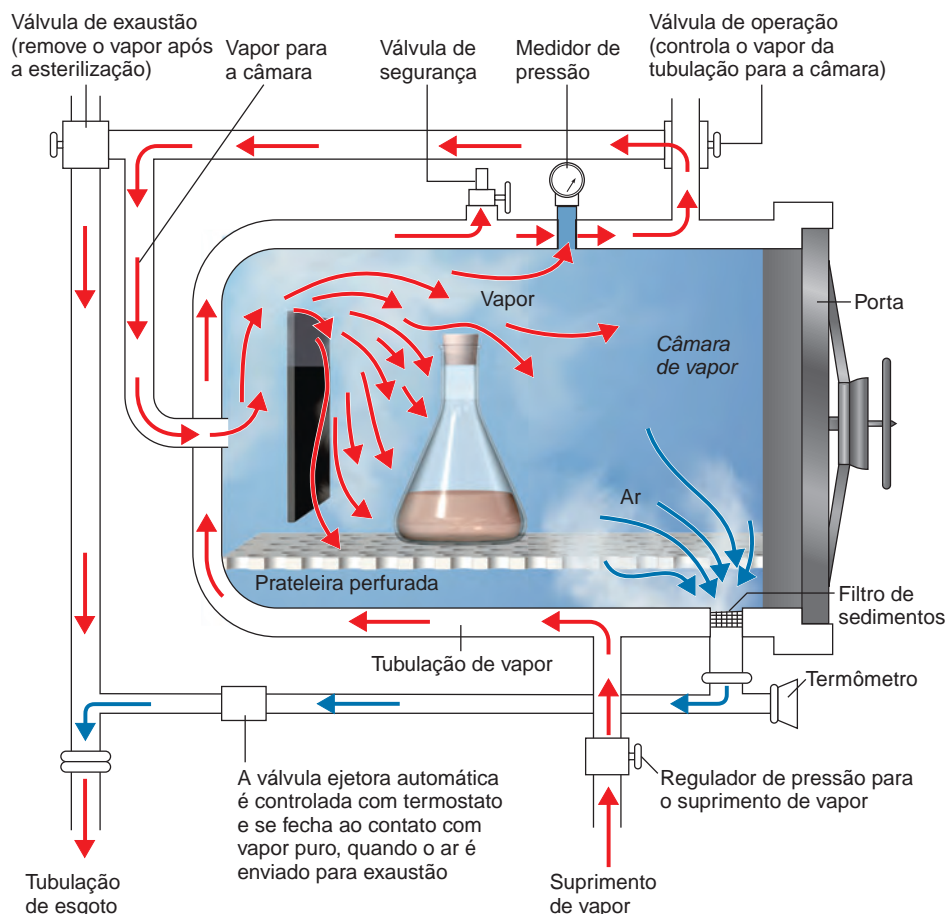



Tabela 7.3 A relação entre a pressão e a temperatura do vapor ao nível do mar*

Pressão (psi acima da pressão atmosférica)	Temperatura (ºC)
0	100
5	110
10	116
15	121
20	126
30	135

* Em altitudes elevadas, a pressão atmosférica é menor, o que deve ser levado em consideração quando se estiver operando uma autoclave. Por exemplo, para se atingir a temperatura de esterilização (121°C) em Denver, no estado norte-americano do Colorado, cuja altitude é 1.600 metros, a pressão mostrada no aferidor da autoclave precisaria ser maior que os 15 psi mostrados na tabela.

Tabela 7.4 O efeito do tamanho do recipiente sobre os tempos de esterilização em autoclave para soluções líquidas*

Tamanho do recipiente	Volume do líquido	Tempo de esterilização (min)
Tubo de ensaio: 18 × 150 mm	10 mL	15
Frasco de Erlenmeyer: 125 mL	95 mL	15
Frasco de Erlenmeyer: 2.000 mL	1.500 mL	30
Balão de fermentação: 9.000 mL	6.750 mL	70

* Os tempos de esterilização na autoclave incluem o tempo para o conteúdo dos recipientes atingir as temperaturas de esterilização. Para recipientes menores, este é de apenas cinco minutos ou menos. Porém, para um frasco de 9.000 mL, pode ser de até 70 minutos. Um recipiente normalmente não é preenchido além de 75% de sua capacidade.

Figura 7.3 Exemplos de indicadores de esterilização. As tiras indicam se o item foi esterilizado corretamente; a palavra *NÃO (NOT)* aparece se o aquecimento foi inadequado. Na ilustração, o indicador que está envolto na lâmina de papel alumínio não foi esterilizado porque o vapor não conseguiu penetrar na lâmina.

P O que deveria ter sido usado em vez de papel alumínio para envolver os itens?

no forno de ar quente que, como veremos em breve, requer uma temperatura maior e mais tempo para esterilizar os materiais. Os recipientes que podem aprisionar ar devem ser colocados em uma posição invertida, para que o vapor force o ar para fora. Os produtos que não permitem a penetração de umidade, como o óleo mineral ou a vaselina, não são esterilizados pelos mesmos métodos usados para soluções aquosas.

Vários métodos comercialmente disponíveis indicarão se a esterilização foi obtida por tratamento com calor. Alguns deles são reações químicas em que um indicador altera sua cor quando os tempos e temperaturas corretos tiverem sido atingidos (**Figura 7.3**). Em alguns métodos, a palavra *estéril* ou *autoclavado* aparece nas embalagens ou em adesivos. Em outro método, uma pastilha contida dentro de um frasco de vidro derrete. Um teste amplamente usado consiste na preparação de determinadas espécies de endosporos bacterianos impregnados em tiras de papel. Após a autoclave, as tiras são então inoculadas assepticamente em meios de cultura. O crescimento nos meios de cultura indica a sobrevivência dos endosporos e, assim, o processamento inadequado. Outros métodos usam suspensões de endosporos que podem ser liberadas, após o aquecimento, em um meio de cultura circundante dentro do mesmo frasco.

O vapor sob pressão falha em esterilizar quando o ar não é completamente removido. Isso pode acontecer com o fechamento prematuro da válvula ejetora automática da autoclave (veja a Figura 7.2). Os princípios da esterilização com o uso do calor têm relação direta com a produção de conservas caseiras. Qualquer pessoa familiarizada com a produção de conservas caseiras sabe que o vapor deve fluir vigorosamente para fora da válvula da tampa por vários minutos, para remover todo o ar antes que a panela de pressão esteja selada. Se o ar não é completamente removido, o recipiente não atinge a temperatura esperada para uma dada pressão. Devido à possibilidade de botulismo, um tipo de intoxicação alimentar resultante de métodos inadequados de envasamento (veja o Capítulo 22, página 616), as pessoas envolvidas na produção de conservas caseiras deveriam obter orientações confiáveis e segui-las rigorosamente.

Pasteurização

Lembre-se do Capítulo 1 que, nos primórdios da microbiologia, Louis Pasteur descobriu um método prático de prevenir a deterioração da cerveja e do vinho. Pasteur usou um aquecimento leve, que era suficiente para matar os organismos que causavam o problema específico de deterioração, sem alterar consideravelmente o sabor do produto. O mesmo princípio foi aplicado posteriormente ao leite, para produzir o que atualmente denominamos leite pasteurizado. O objetivo ao **pasteurizar** o leite é eliminar micro-organismos patogênicos. O processo também reduz o número de micro-organismos, prolongando a qualidade do leite quando mantido sob refrigeração. Muitas bactérias relativamente resistentes ao calor (**termodúricas**) sobrevivem à pasteurização, mas têm pouca probabilidade de causar doença ou deteriorar o leite refrigerado.

Outros produtos além do leite, como o sorvete, o iogurte e a cerveja, possuem seus próprios tempos e temperaturas de pasteurização, que com frequência diferem consideravelmente. Existem diversas razões para essas variações. O aquecimento, por exemplo, é menos eficiente em alimentos mais viscosos, e as gorduras podem ter um efeito protetor para os micro-organismos nos alimentos. A indústria de laticínios utiliza rotineiramente um teste para determinar se os produtos foram pasteurizados: o teste da *fosfatase* (a fosfatase é uma enzima naturalmente encontrada no leite). Se o produto sofreu pasteurização, a fosfatase foi inativada.

Atualmente, a maioria dos processos de pasteurização do leite utiliza temperaturas mínimas de 72ºC, mas por apenas 15 segundos. Esse tratamento, conhecido como **pasteurização de alta temperatura e curto tempo** (**HTST**, de *high-temperature, short-time*), é aplicado enquanto o leite flui continuamente por uma serpentina. Além de matar os patógenos, a pasteurização HTST diminui as contagens bacterianas totais; assim, o leite se conserva bem sob refrigeração.

O leite também pode ser esterilizado – algo muito diferente da pasteurização – por **tratamentos de temperatura ultraelevada** (**UHT**, de *ultra-high temperature*), podendo ser armazenado sem refrigeração por vários meses (veja também *esterilização comercial*, na página 794). O leite UHT é muito comercializado na Europa, sendo especialmente útil em regiões menos desenvolvidas do mundo, onde condições apropriadas de refrigeração nem sempre estão disponíveis. Nos Estados Unidos, o tratamento de UHT algumas vezes é usado em recipientes pequenos de creme para o café, encontrados em restaurantes. Para evitar dar ao leite um sabor de cozido, é usado um sistema UHT em que o leite nunca toca uma superfície mais quente que ele próprio enquanto é aquecido por vapor. Geralmente, o leite líquido é aspergido por um bocal em uma câmara com vapor sob pressão em altas temperaturas. Como um pequeno

volume de fluido aspergido em uma atmosfera de vapor em alta temperatura expõe uma superfície relativamente grande, as gotículas do fluido são aquecidas pelo vapor, e as temperaturas de esterilização são alcançadas quase que instantaneamente. Após atingir uma temperatura de 140°C por 4 segundos, o fluido é rapidamente resfriado em uma câmara de vácuo. O leite (ou suco) é então empacotado em uma embalagem hermética e pré-esterilizada.

Os tratamentos de calor que acabamos de discutir ilustram o conceito de **tratamentos equivalentes**: à medida que a temperatura é aumentada, muito menos tempo é necessário para matar o mesmo número de micro-organismos. Por exemplo, a destruição de endosporos altamente resistentes pode levar 70 minutos a 115°C, enquanto apenas 7 minutos seriam necessários a 125°C. Ambos os tratamentos produzem o mesmo resultado.

Esterilização por calor seco

O calor seco mata por efeitos de oxidação. Uma analogia simples é a lenta carbonização do papel em um forno aquecido, mesmo quando a temperatura permanece abaixo do ponto de ignição do papel. Um dos mais simples métodos de esterilização com calor seco é a **chama direta**. Você utilizará esse procedimento muitas vezes no laboratório de microbiologia, quando esterilizar alças de inoculação. Para esterilizar efetivamente a alça de inoculação, você aquece o fio até obter um brilho vermelho. Um princípio similar é usado na *incineração*, um modo efetivo de esterilizar e eliminar papel, copos, sacos e vestimentas contaminadas.

Outra forma de esterilização por calor seco é a **esterilização em ar quente.** Os itens esterilizados por esse procedimento são colocados em um forno. Geralmente, uma temperatura de cerca de 170°C mantida por aproximadamente duas horas assegura a esterilização. Um tempo maior e uma temperatura mais alta (relativos ao calor úmido) são necessários, pois o calor na água é conduzido mais rapidamente para um corpo frio do que o calor no ar. Por exemplo, imagine os diferentes efeitos da imersão de sua mão em água fervente a 100°C e de mantê-la em um forno de ar quente na mesma temperatura pela mesma quantidade de tempo.

Filtração

P&R Lembre-se do Capítulo 6 que a *filtração* é a passagem de um líquido ou gás por meio de um material semelhante a uma tela, com poros pequenos o suficiente para reter os micro-organismos (frequentemente o mesmo aparato usado para contagem; veja a Figura 6.18, página 177). Um vácuo é criado no frasco coletor, e a pressão do ar força a passagem do líquido pelo filtro. A filtração é usada para esterilizar os materiais sensíveis ao calor, como alguns meios de cultura, enzimas, vacinas e soluções antibióticas.

Algumas salas de cirurgia e salas ocupadas por pacientes queimados recebem ar filtrado para reduzir o número de micro-organismos transmitidos pelo ar. Os **filtros de partículas de ar de alta eficiência** (**HEPA**, de *high-efficiency particulate air*) removem quase todos os micro-organismos maiores que cerca de 0,3 μm de diâmetro.

Nos primórdios da microbiologia, filtros ocos em forma de velas feitos de porcelana não esmaltada eram usados para filtrar os líquidos. As passagens longas e indiretas através das paredes do filtro adsorviam as bactérias. Os patógenos invisíveis que passavam através dos filtros (e que causavam doenças como a raiva) eram denominados *vírus filtráveis*. Veja a discussão sobre a filtração nos processos modernos de tratamento de água, na página 782.

Figura 7.4 Esterilização com filtro, com uma unidade plástica descartável, pré-esterilizada. A amostra é colocada na câmara superior e forçada através do filtro de membrana pelo vácuo, para a câmara inferior. Os poros do filtro de membrana são menores que as bactérias, e assim, elas são retidas no filtro. A amostra esterilizada pode então ser decantada na câmara inferior. Um equipamento similar com discos de filtro removíveis é usado para contar as bactérias em amostras (veja a Figura 6.18).

P Como um aparato plástico de filtração pode ser pré-esterilizado? (Considere que o plástico não pode ser esterilizado por calor.)

Recentemente, os **filtros de membrana**, compostos de substâncias como ésteres de celulose ou polímeros plásticos, tornaram-se populares para uso industrial e laboratorial (**Figura 7.4**). Esses filtros possuem apenas 0,1 mm de espessura. Os poros de um filtro de membrana incluem, por exemplo, tamanhos de 0,22 μm e 0,45 μm, que são destinados a bactérias. Entretanto, algumas bactérias muito flexíveis, como as espiroquetas ou os micoplasmas sem parede celular, algumas vezes passam através desses filtros. Existem filtros com poros tão pequenos quanto 0,01 μm, um tamanho que retém os vírus e mesmo algumas moléculas grandes de proteína.

Baixas temperaturas

O efeito das baixas temperaturas sobre os micro-organismos depende do micróbio específico e da intensidade da aplicação. Por exemplo, nas temperaturas dos refrigeradores comuns (0 a 7°C), a taxa metabólica da maioria dos micro-organismos é tão reduzida que eles não podem se reproduzir ou sintetizar toxinas. Em outras

palavras, a refrigeração comum tem efeito bacteriostático. Contudo, os psicótrofos ainda crescem lentamente em temperaturas de refrigerador, alterando o aspecto e o sabor dos alimentos após algum tempo. Por exemplo, um único micro-organismo reproduzindo-se somente três vezes por dia atingiria uma população de mais de 2 milhões em uma semana. As bactérias patogênicas geralmente não crescem em temperaturas de refrigerador, mas pelo menos uma importante exceção é conhecida. Veja a discussão sobre listeriose no Capítulo 22 (página 614).

Surpreendentemente, algumas bactérias podem crescer em temperaturas vários graus abaixo do congelamento. A maioria dos alimentos permanece descongelada até –2°C ou menos. As temperaturas abaixo do congelamento obtidas rapidamente tendem a tornar os micro-organismos dormentes, mas não necessariamente os mata. O congelamento lento é mais nocivo às bactérias; os cristais de gelo que se formam e crescem rompem a estrutura celular e molecular bacteriana. O descongelamento, por ser um processo lento, é na verdade a parte mais prejudicial do ciclo congelamento-descongelamento. Uma vez congelada, um terço da população de algumas bactérias na forma vegetativa pode sobreviver por um ano, enquanto outras espécies podem ter poucos sobreviventes após esse período. Muitos parasitas eucariotos, como o verme que causa a triquinose humana, são mortos após vários dias de temperaturas gélidas. Algumas temperaturas importantes associadas aos micro-organismos e à deterioração do alimento são mostradas na Figura 6.2 (página 158).

Alta pressão

Quando se aplica alta pressão em suspensões líquidas, ela se transfere instantânea e uniformemente para a amostra. Se a pressão for alta o suficiente, as estruturas moleculares das proteínas e dos carboidratos serão alteradas, resultando na rápida inativação das células bacterianas vegetativas. Os endosporos são relativamente resistentes à alta pressão. Eles podem, no entanto, ser mortos por outras técnicas, como combinar alta pressão com temperaturas elevadas, ou alternar ciclos de pressão que causam a germinação de esporos, seguidos por mortes causadas por pressão das células vegetativas resultantes. Sucos de fruta conservados por tratamentos à base de alta pressão têm sido comercializados no Japão e nos Estados Unidos. Uma vantagem desses tratamentos é que eles mantêm o sabor, a coloração e os valores nutricionais dos produtos.

Dessecaçâo

Na ausência de água, uma condição conhecida como **dessecação**, os micro-organismos não podem crescer ou se reproduzir, mas podem permanecer viáveis por anos. Então, quando a água é oferecida a eles, podem retomar seu crescimento e divisão. Esse é o princípio da liofilização, ou congelamento-dessecação, um processo utilizado em laboratórios para preservação de micro-organismos, descrito no Capítulo 6 (página 170). Alguns alimentos também passam pelo processo de congelamento-dessecação (p. ex., café e alguns aditivos químicos de fruta para cereais secos).

A resistência das células vegetativas ao ressecamento varia com a espécie e o ambiente do organismo. Por exemplo, a bactéria da gonorreia pode suportar o ressecamento somente por cerca de uma hora, mas a bactéria da tuberculose pode permanecer viável por meses. Os vírus geralmente são resistentes ao ressecamento, mas não são tão resistentes quanto os endosporos bacterianos, alguns dos quais sobreviveram por séculos. Essa capacidade de certos micro-organismos e endosporos secos permanecerem viáveis é importante em um ambiente hospitalar. A poeira, as roupas, os lençóis e os curativos podem conter micro-organismos infecciosos em muco, urina, pus e fezes secos.

Pressão osmótica

O uso de altas concentrações de sais e açúcares para conservar o alimento se baseia nos efeitos da *pressão osmótica.* Altas concentrações dessas substâncias criam um ambiente hipertônico que ocasiona a saída da água da célula microbiana (veja a Figura 6.4, página 160). Esse processo lembra a conservação por dessecação, pois ambos os métodos retiram da célula a umidade que ela necessita para o crescimento. O princípio da pressão osmótica é usado na conservação dos alimentos. Por exemplo, soluções concentradas de sal são usadas para conservar carnes, e soluções espessas de açúcar são usadas para conservar frutas.

Como regra geral, os fungos e os bolores são muito mais capazes que as bactérias de crescer em materiais com baixa umidade ou altas pressões osmóticas. Essa propriedade dos fungos, algumas vezes combinada com sua capacidade de crescer em condições ácidas, é a razão pela qual as frutas e os grãos são deteriorados por fungos em vez de bactérias. Também é parcialmente por isso que o bolor é capaz de crescer sobre uma parede úmida ou uma cortina de chuveiro.

Radiação

A radiação apresenta vários efeitos sobre as células, dependendo de seu comprimento de onda, intensidade e duração. Existem dois tipos de radiação que matam micro-organismos (radiação esterilizante): ionizante e não ionizante.

A **radiação ionizante** – raios gama, raios X ou feixes de elétrons de alta energia – possui um comprimento de onda mais curto que o da radiação não ionizante, menos de 1 nm. Assim, transporta muito mais energia (**Figura 7.5**). Os *raios gama* são emitidos por certos elementos radioativos, como o cobalto, e os feixes de elétrons são produzidos acelerando elétrons até energias elevadas em máquinas especiais. Os *raios X,* que são produzidos por máquinas do mesmo modo que a produção de feixes de elétrons, são de natureza similar aos raios gama. Os raios gama penetram profundamente, mas podem requerer horas para esterilizar grandes massas; os *feixes de elétrons de alta energia* possuem uma potência de penetração muito inferior, mas normalmente requerem apenas alguns segundos de exposição. O principal efeito da radiação ionizante é a ionização da água, que forma radicais hidroxila altamente reativos (veja a discussão das formas tóxicas de oxigênio no Capítulo 6, páginas 161 e 162). Esses radicais reagem com os componentes orgânicos celulares, especialmente o DNA.

A chamada teoria-alvo da lesão por radiação presume que as partículas ionizantes, ou pacotes de energia, passam através ou junto a porções vitais da célula; isso constitui os "golpes". Um ou alguns golpes podem causar apenas mutações não letais, algumas delas relativamente úteis. Mais golpes, porém, provavelmente causarão mutações suficientes para matar o micro-organismo.

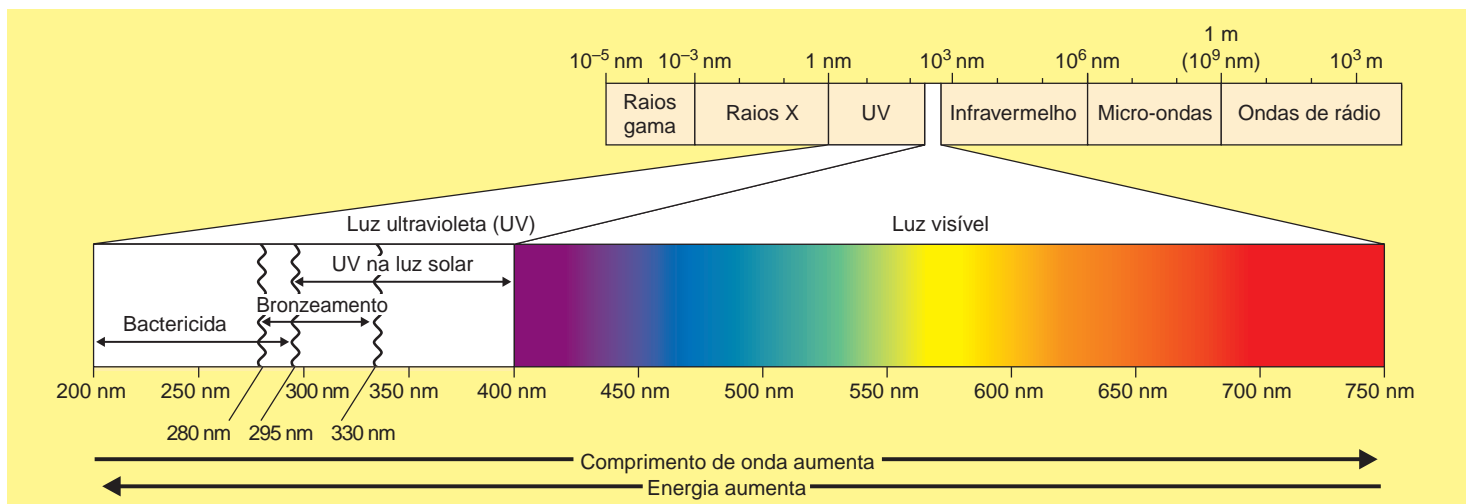



Figura 7.5 **O espectro de energia radiante.** A luz visível e outras formas de energia radiante se irradiam pelo espaço como ondas de vários comprimentos. A radiação ionizante, como os raios gama e X, possui um comprimento de onda mais curto que 1 nm. A radiação não ionizante, como a luz ultravioleta (UV), possui um comprimento de onda entre 1 nm e cerca de 380 nm, onde o espectro visível começa.

P **Como o aumento da radiação UV (devido à diminuição da camada de ozônio) pode afetar os ecossistemas da Terra?**

A indústria de alimentos recentemente renovou seu interesse no uso da radiação para a conservação de alimentos (discutida mais amplamente no Capítulo 28). A radiação ionizante de baixa penetração, usada durante anos em muitos países, foi aprovada nos Estados Unidos para processamento de temperos e alguns tipos de carne e de vegetais. A radiação ionizante, especialmente os feixes de elétrons de alta energia, é usada na esterilização de produtos farmacêuticos e materiais descartáveis dentários e médicos, como seringas plásticas, luvas cirúrgicas, materiais de sutura e cateteres. Como forma de proteção contra o bioterrorismo, os correios frequentemente usam a radiação para esterilizar certos tipos de correspondências.

A **radiação não ionizante** possui um comprimento de onda maior que o da radiação ionizante, normalmente acima de 1 nm. O melhor exemplo de radiação não ionizante é a luz ultravioleta (UV). A luz UV causa danos ao DNA das células expostas, produzindo ligações entre as bases pirimídicas adjacentes, normalmente timinas nas cadeias de DNA (veja a Figura 8.20, página 230). Esses *dímeros de timina* inibem a replicação correta do DNA durante a reprodução da célula. Os comprimentos de onda UV mais eficazes para matar os micro-organismos são os de cerca de 260 nm; esses comprimentos são absorvidos especificamente pelo DNA celular. A radiação UV também é usada para controlar os micro-organismos no ar. Uma lâmpada UV ou "germicida" é comumente encontrada em salas de hospitais, enfermarias, salas de cirurgia e refeitórios. A luz UV também é usada para desinfetar vacinas e outros produtos médicos. Uma grande desvantagem da luz UV como desinfetante é que a radiação não é muito penetrante; assim, os organismos a serem mortos devem ser expostos diretamente aos raios. Organismos protegidos por sólidos e coberturas como papel, vidro e tecidos não são afetados. Outro problema potencial é que a luz UV pode lesionar os olhos humanos, e a exposição prolongada pode causar queimaduras e câncer de pele em seres humanos.

A luz solar contém um pouco de radiação UV, mas os comprimentos de onda mais curtos – aqueles mais eficazes contra as bactérias – são filtrados pela camada de ozônio da atmosfera. O efeito antimicrobiano da luz solar está quase inteiramente relacionado à formação de oxigênio livre no citoplasma (veja o Capítulo 6, página 161). Muitos pigmentos produzidos por bactérias fornecem proteção contra a luz solar.

As **micro-ondas** não possuem um efeito muito direto sobre os micro-organismos, e as bactérias podem ser facilmente isoladas do interior de fornos de micro-ondas recém-utilizados. Os alimentos contendo umidade são aquecidos pela ação das micro-ondas, e o calor matará a maioria dos patógenos na forma vegetativa. Os alimentos sólidos se aquecem de modo desigual, devido à distribuição heterogênea da umidade. Por essa razão, a carne de porco cozida em um forno de micro-ondas tem sido responsável por surtos de triquinose.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como prevenir o crescimento microbiano em alimentos enlatados? **7-4**
- ✓ Por que um enlatado contendo somente carne de porco requer um tempo maior de esterilização a uma dada temperatura do que um que contenha sopa com pedaços de carne de porco? **7-5**
- ✓ Qual é a relação entre o efeito mortal da radiação e as formas de radicais hidroxilas do oxigênio? **7-6**

* * *

A **Tabela 7.5** resume os métodos físicos de controle microbiano.

Tabela 7.5 Métodos físicos usados para o controle do crescimento microbiano

Método	Mecanismo de ação	Comentário	Uso preferencial
Calor			
1. Calor úmido			
a. Fervura ou passagem de vapor	Desnaturação de proteínas.	Mata células bacterianas e fúngicas patogênicas na forma vegetativa e quase todos os vírus em 10 minutos; menos efetivo para endosporos.	Pratos, bacias, jarros, equipamentos e utensílios variados.
b. Autoclave	Desnaturação de proteínas.	Método muito efetivo de esterilização; em aproximadamente 15 psi de pressão (121°C), todas as células vegetativas e seus endosporos são mortos em cerca de 15 minutos.	Meios microbiológicos, soluções, roupa de cama, utensílios, curativos, equipamento e outros itens que podem suportar temperatura e pressão.
2. Pasteurização	Desnaturação de proteínas.	Tratamento com calor para o leite (72°C por cerca de 15 segundos) que mata todos os patógenos e a maioria dos não patogênicos.	Leite, creme e certas bebidas alcoólicas (cerveja e vinho).
3. Calor seco			
a. Chama direta	Queima dos contaminantes até se tornarem cinzas.	Método muito eficaz de esterilização.	Alças de inoculação.
b. Incineração	Queima até se tornarem cinzas.	Método muito eficaz de esterilização.	Copos de papel, curativos contaminados, carcaças de animais, sacos e panos de limpeza.
c. Esterilização com calor quente	Oxidação.	Método muito eficaz de esterilização, mas requer temperatura de 170°C por cerca de duas horas.	Vidros vazios, instrumentos, agulhas e seringas de vidro.
Filtração	Separação das bactérias do líquido de suspensão.	Remove os micro-organismos por meio da passagem de um líquido ou gás através de um material semelhante a uma tela; a maioria dos filtros em uso consiste em acetato de celulose ou nitrocelulose.	Útil para esterilizar líquidos (enzimas, vacinas) que são destruídos pelo calor.
Frio			
1. Refrigeração	Diminuição das reações químicas e possíveis alterações nas proteínas.	Possui efeito bacteriostático.	Conservação dos alimentos, drogas e culturas.
2. Congelamento profundo (veja o Capítulo 6, página 170)	Diminuição das reações químicas e possíveis alterações nas proteínas.	Um método eficaz para conservar culturas microbianas, em que as culturas são rapidamente congeladas a –50 e –95°C.	Conservação dos alimentos, drogas e culturas.
3. Liofilização (veja o Capítulo 6, página 170)	Diminuição das reações químicas e possíveis alterações nas proteínas.	Método mais eficaz para a conservação prolongada de culturas microbianas; a água é removida por alto vácuo em baixa temperatura.	Conservação dos alimentos, drogas e culturas.
Alta pressão	Alteração da estrutura molecular de proteínas e carboidratos.	Conservação de cores, sabores e valores nutricionais.	Sucos de fruta.
Dessecação	Interrupção do metabolismo.	Envolve a remoção de água dos micro-organismos; principalmente bacteriostático.	Conservação dos alimentos.
Pressão osmótica	Plasmólise.	Resulta na perda de água das células microbianas.	Conservação dos alimentos.
Radiação			
1. Ionizante	Destruição do DNA.	Não disseminado na esterilização de rotina.	Método usado para esterilizar produtos farmacêuticos e suprimentos médicos e dentários.
2. Não ionizante	Danos ao DNA.	Radiação não muito penetrante.	Controle de ambientes fechados com lâmpada UV (germicida).

Métodos químicos de controle microbiano

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

7-7 Listar os fatores relacionados à desinfecção efetiva.

7-8 Interpretar os resultados dos testes de uso-diluição e do método de disco-difusão.

7-9 Identificar os métodos de ação e usos preferenciais dos desinfetantes químicos.

7-10 Diferenciar os halogênios usados como antissépticos dos halogênios usados como desinfetantes.

7-11 Identificar os usos apropriados para os agentes com atividade de superfície.

7-12 Listar as vantagens do glutaraldeído em relação a outros desinfetantes químicos.

7-13 Identificar esterilizantes químicos.

Os agentes químicos são usados para controlar o crescimento de micro-organismos em tecidos vivos e objetos inanimados. Infelizmente, poucos agentes químicos proporcionam a esterilidade; a maioria deles meramente reduz as populações microbianas em níveis seguros ou removem as formas vegetativas de patógenos em objetos. Um problema comum na desinfecção é a seleção de um agente. Nenhum desinfetante isolado é apropriado para todas as circunstâncias.

Princípios da desinfecção efetiva

Ao ler o rótulo, podemos aprender muito sobre as propriedades de um desinfetante. O rótulo geralmente indica contra quais grupos de organismos o desinfetante será efetivo. Lembre-se de que a concentração de um desinfetante influencia sua ação; assim, ele sempre deve ser diluído exatamente como especificado pelo fabricante.

Considere também a natureza do material a ser desinfetado. Por exemplo, estão presentes materiais orgânicos que podem interferir com a ação do desinfetante? De modo similar, o pH do meio frequentemente tem um grande efeito na atividade de um desinfetante.

Outra consideração muito importante é se o desinfetante entrará facilmente em contato com os micro-organismos. Uma área pode precisar ser esfregada e lavada antes da aplicação do desinfetante. Em geral, a desinfecção é um processo gradual. Portanto, para ser efetivo, pode ser necessário deixar um desinfetante em contato com uma superfície por várias horas.

Avaliando um desinfetante

Testes de uso-diluição

Existe uma necessidade de se avaliar a efetividade dos desinfetantes e antissépticos. O padrão atual é o **teste de uso-diluição** do *American Official Analytical Chemist.* Cilindros metálicos ou de vidro (8 mm × 10 mm) são mergulhados em culturas padronizadas das bactérias-teste cultivadas em meio líquido, removidas e secas a 37°C por um breve período. As culturas secas são então colocadas em uma solução do desinfetante na concentração recomendada pelo fabricante e deixadas por 10 minutos a 20°C. Após essa exposição, os cilindros são transferidos a um meio que permitirá o crescimento de quaisquer bactérias sobreviventes. A efetividade do desinfetante pode então ser determinada pelo número de culturas que se desenvolverem.

Variações desse método são usadas para testar a efetividade dos agentes antimicrobianos contra endosporos, micobactérias que causam tuberculose, vírus e fungos, pois esses são difíceis de controlar com produtos químicos. Além disso, os testes de antimicrobianos destinados a objetivos especiais, como a desinfecção diária de utensílios, podem utilizar outras bactérias-teste.

O método de disco-difusão

O **método de disco-difusão** é usado em laboratórios de ensino, para avaliar a eficácia de um agente químico. Um disco de papel filtro é embebido em um produto químico e colocado em uma placa de ágar que foi previamente inoculada e incubada com o organismo-teste. Após incubação, se o produto químico é eficaz, uma zona clara representando a inibição do crescimento pode ser visualizada em torno do disco (**Figura 7.6**).

Discos contendo antibióticos estão comercialmente disponíveis e são usados para determinar a suscetibilidade microbiana aos antibióticos (veja a Figura 20.17, página 572).

Tipos de desinfetantes

Fenol e compostos fenólicos

Lister foi o primeiro a usar o **fenol** (ácido carbólico) para controlar infecções cirúrgicas na sala de operação. O uso de fenol foi sugerido devido à sua capacidade de controlar o odor do esgoto. Nos dias atuais, ele raramente é usado como antisséptico ou desinfetante, pois irrita a pele e tem um odor desagradável. Com frequência é utilizado em pastilhas para a garganta devido a seu efeito anestésico local, mas possui pouco efeito antimicrobiano nas baixas concentrações usadas. Contudo, em concentrações acima de 1% (como em alguns *sprays* para a garganta), o fenol tem um efeito antibacteriano significativo. A estrutura de uma molécula de fenol é mostrada na **Figura 7.7a**.

Os derivados do fenol, denominados de **compostos fenólicos,** contêm uma molécula de fenol que foi quimicamente alterada para reduzir suas propriedades irritantes ou aumentar sua atividade antibacteriana em combinação com um sabão ou detergente. Os compostos fenólicos exercem atividade antimicrobiana lesando as membranas plasmáticas lipídicas, o que resulta em vazamento do conteúdo celular. A parede celular das micobactérias, que causam a tuberculose e a lepra, é rica em lipídeos, tornando-as suscetíveis aos derivados do fenol. Uma propriedade útil dos compostos fenólicos enquanto desinfetantes é que permanecem ativos em presença de compostos orgânicos, são estáveis e persistem por longos períodos após a aplicação. Por esses motivos, os compostos fenólicos são agentes apropriados para desinfecção de pus, saliva e fezes.

Um dos compostos fenólicos usados com mais frequência usados é derivado do alcatrão, um grupo de substâncias químicas denominadas *cresóis.* Um cresol muito importante é o *O-fenilfenol* (veja as Figuras 7.6 e **7.7b**), o principal componente da maioria das formulações de Lysol. Os cresóis são ótimos desinfetantes de superfície.

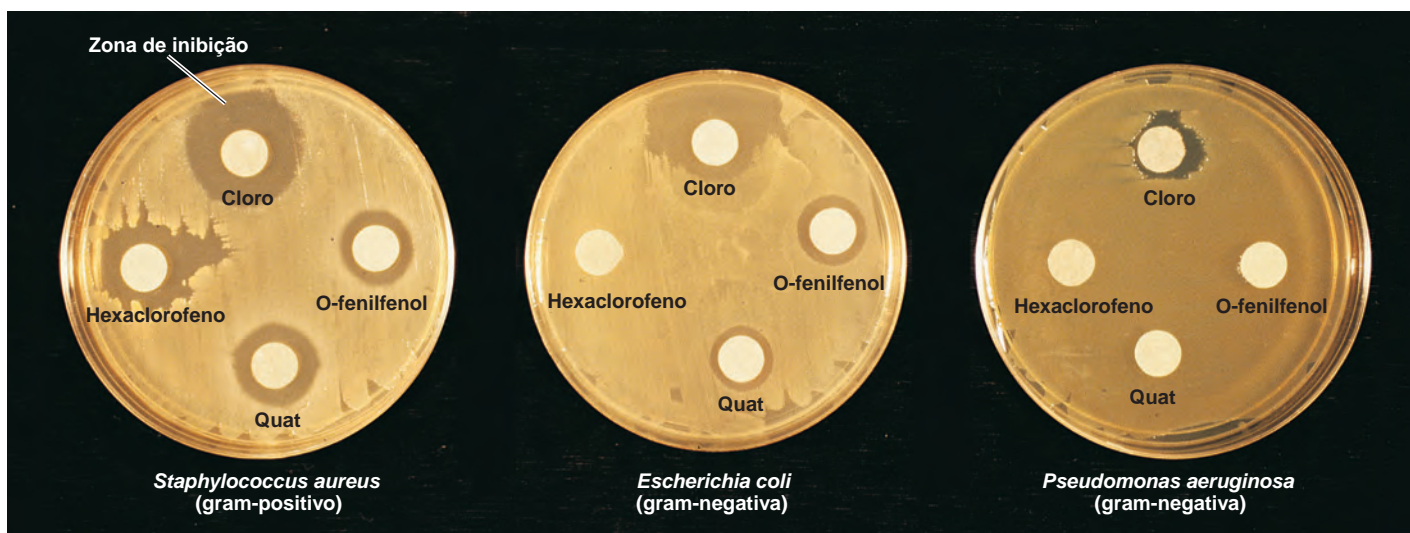



Figura 7.6 **Avaliação de desinfetantes pelo método de disco-difusão.** Neste experimento, discos de papel são embebidos em uma solução de desinfetante e colocados na superfície de meio nutriente em que uma cultura de bactérias-teste foi semeada para produzir um crescimento uniforme.

No alto de cada placa, verifica-se que o cloro (como no hipoclorito de sódio) foi efetivo contra todas as bactérias-teste, mas foi mais efetivo contra as bactérias gram-positivas.

Na fileira inferior de cada placa, os testes mostraram que o composto de amônio quaternário ("quat") também foi mais efetivo contra as bactérias gram-positivas, mas não afetou as pseudomonas.

No lado esquerdo de cada placa, o hexaclorofeno foi efetivo somente contra as bactérias gram-positivas. No lado direito, o O-fenilfenol foi ineficaz contra pseudomonas, mas foi quase igualmente eficaz contra as bactérias gram-positivas e as gram-negativas.

Todas as quatro substâncias químicas funcionaram contra as bactérias-teste gram-positivas, mas somente uma das quatro afetou as pseudomonas.

P **Qual grupo de bactérias é o mais resistente aos desinfetantes testados?**

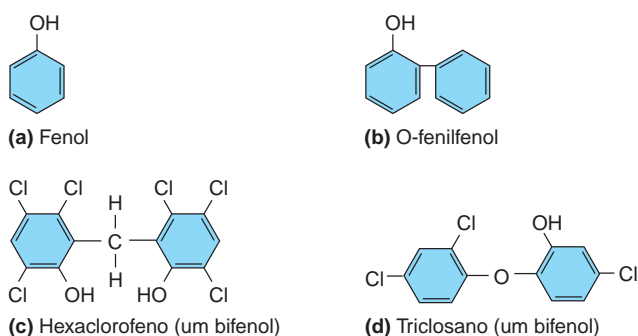



Figura 7.7 **A estrutura dos fenólicos e dos bifenóis.**

P **Alguns produtos com o objetivo de aliviar os sintomas de uma dor de garganta contêm fenol. Por que esta substância foi incluída?**

Bifenóis

Os **bifenóis** são derivados do fenol que possuem dois grupos fenólicos ligados por uma ponte *(bi* indica dois). Um bifenol, o *hexaclorofeno* (Figuras 7.6 e 7.7c) é um dos ingredientes da loção pHisoHex, usada em procedimentos de controle microbiano cirúrgico e hospitalar. Estafilococos e estreptococos gram-positivos, que podem causar infecções de pele em recém-nascidos, são especialmente suscetíveis ao hexaclorofeno, que é usado com frequência para controlar essas infecções em berçários. Contudo, o uso excessivo deste bifenol, como o banho de lactentes com ele várias vezes por dia, pode levar a danos neurológicos.

Outro bifenol amplamente utilizado é o *triclosano* (Figura 7.7d), um dos componentes presentes nas formulações de sabonetes antibacterianos e pastas de dente. O uso do triclosano foi incorporado inclusive em tábuas de cozinha e em cabos de facas e outros utensílios de cozinha feitos de plástico. Seu uso está tão difundido atualmente que bactérias resistentes a este agente já foram relatadas, e há uma preocupação quanto ao efeito do triclosano sobre a resistência de micro-organismos a certos antibióticos. O triclosano inibe a ação de uma enzima necessária para a biossíntese de ácidos graxos (lipídeos), afetando principalmente a integridade da membrana plasmática. É especialmente efetivo contra bactérias gram-positivas, mas também funciona bem contra fungos e bactérias gram-negativas. Existem algumas exceções, como a *Pseudomonas aeruginosa,* uma bactéria gram-negativa que é muito resistente ao triclosano, bem como a muitos outros antibióticos e desinfetantes (veja a discussão nas páginas 308, 414 e 591).

Biguanidas

As biguanidas apresentam um amplo espectro de atividade, com um mecanismo de ação que afeta principalmente as membranas celulares bacterianas. Elas são especialmente efetivas contra bac-

térias gram-positivas. As biguanidas também são efetivas contra bactérias gram-negativas, com exceção da maioria das pseudomonas. Elas não apresentam atividade esporocida, mas possuem alguma ação contra vírus envelopados. A biguanida mais conhecida é a *clorexidina*, frequentemente usada no controle microbiano da pele e das membranas mucosas. Combinada a um detergente ou álcool, a clorexidina também é usada para a escovação cirúrgica das mãos e no preparo pré-operatório da pele de pacientes. A *alexidina* é uma biguanida similar à clorexidina, apresentando, porém, ação mais rápida.

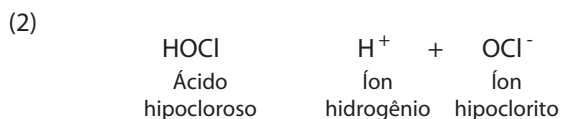
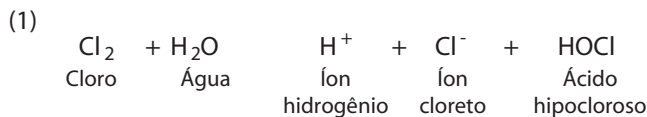
Halogênios

Os **halogênios,** particularmente o iodo e o cloro, são agentes antimicrobianos eficazes, tanto isoladamente quanto como constituintes de compostos inorgânicos ou orgânicos. O *iodo* (I_2) é um dos antissépticos mais antigos e mais eficazes, sendo eficiente contra todos os tipos de bactérias, muitos endosporos, vários fungos e alguns vírus. O iodo impede a síntese de algumas proteínas e causa alterações nas membranas celulares microbianas, aparentemente pela formação de complexos com aminoácidos e ácidos graxos insaturados.

O iodo está disponível como uma **tintura** – isto é, em solução em álcool aquoso – e como um iodóforo. Um **iodóforo** é uma combinação de iodo e uma molécula orgânica, da qual o iodo é lentamente liberado. Os iodóforos possuem a atividade antimicrobiana do iodo, mas não mancham e são menos irritantes. O preparado comercial mais comun é o Betadine, que é uma *povidona-iodo.* A povidona é um iodóforo com atividade de superfície que melhora a ação de umedecer e funciona como um reservatório de iodo livre. O iodo é usado principalmente na desinfecção da pele e no tratamento de feridas. Muitos campistas estão familiarizados com seu uso para o tratamento da água.

O *cloro* (Cl_2), como gás ou em combinação com outras substâncias químicas, é outro desinfetante amplamente usado. Sua ação germicida é causada pelo ácido hipocloroso (HOCl) que se forma quando o cloro é adicionado à água:

(1)
$$\underset{\text{Cloro}}{Cl_2} + \underset{\text{Água}}{H_2O} \quad \underset{\text{Íon hidrogênio}}{H^+} + \underset{\text{Íon cloreto}}{Cl^-} + \underset{\text{Ácido hipocloroso}}{HOCl}$$

(2)
$$\underset{\text{Ácido hipocloroso}}{HOCl} \quad \underset{\text{Íon hidrogênio}}{H^+} + \underset{\text{Íon hipoclorito}}{OCl^-}$$

O ácido hipocloroso é um forte agente oxidante que impede o funcionamento de boa parte do sistema enzimático celular. Esse ácido é a forma mais eficaz de cloro, pois tem carga elétrica neutra e se difunde tão rapidamente quanto a água através da parede celular. Devido à sua carga negativa, o íon hipoclorito (OCl^-) não pode penetrar livremente na célula.

Uma forma líquida de gás cloro comprimido é bastante usada para desinfetar a água potável municipal, a água das piscinas e o esgoto. Vários compostos de cloro também são desinfetantes eficazes. Por exemplo, as soluções de *hipoclorito de cálcio* [$Ca(OCl)_2$] são usadas para desinfetar equipamentos de fábricas de laticínios e utensílios de restaurantes. Esse composto, que um dia foi chamado de cloreto de cálcio, já era usado em 1825, muito tempo antes do conceito de uma teoria dos germes e das doenças, para deixar ataduras de molho em hospitais de Paris. Também era o desinfetante usado na década de 1840 por Semmelweis para controlar as infecções hospitalares durante o parto, como mencionado no Capítulo 1, página 11. Outro composto de cloro, o *hipoclorito de sódio* (NaOCl; veja a Figura 7.6) é usado como desinfetante doméstico e alvejante (Clorox), como desinfetante em fábricas de laticínios e alimentos, e em sistemas de hemodiálise. Quando a qualidade da água potável é duvidosa, o alvejante doméstico pode fornecer um equivalente aproximado da cloração municipal. Após duas gotas de alvejante serem adicionadas a um litro de água (quatro gotas se a água estiver turva) e a mistura ser armazenada por 30 minutos, a água é considerada segura para beber em condições de emergência.

A indústria de alimentos utiliza soluções de dióxido de cloro como desinfetantes de superfície, pois não deixam odores e sabores residuais. Como desinfetante, o dióxido de cloro possui um amplo espectro de atividade contra bactérias e vírus, sendo também efetivo, quando empregado em altas concentrações, contra cistos e endosporos. Em baixas concentrações, ele pode ser usado como antisséptico (veja também a página 201 para o uso do dióxido de cloro como desinfetante e esterilizante).

Outro grupo importante de compostos de cloro são as *cloraminas,* combinações de cloro e amônia. A maioria dos sistemas municipais de tratamento de água mistura amônia com cloro para formar cloraminas. (As cloraminas são tóxicas aos peixes de aquário, mas a maioria das lojas de animais comercializa substâncias químicas para neutralizá-las.) As forças militares norte-americanas em batalha recebem pastilhas (Chlor-Floc) que contêm *dicloroisocianurato de sódio,* uma forma de cloro combinada a um agente que flocula (coagula) os materiais suspensos em uma amostra de água, fazendo-os precipitar e limpando a água. Cloraminas também são utilizadas para sanitizar louças e utensílios de restaurantes, e para tratar equipamentos de indústrias de laticínios e de alimentos. Elas são compostos relativamente estáveis, que liberam cloro durante períodos prolongados. Também são relativamente eficazes em presença de matéria orgânica, mas possuem a desvantagem de agir mais lentamente e de ser menos eficazes que o hipoclorito.

Alcoóis

Alcoóis matam efetivamente as bactérias e os fungos, mas não os endosporos e os vírus não envelopados. O mecanismo de ação do álcool normalmente é a desnaturação de proteínas, mas ele também pode romper membranas e dissolver muitos lipídeos, incluindo o componente lipídico dos vírus envelopados. Os alcoóis têm a vantagem de agir e então evaporar rapidamente, sem deixar resíduo. Quando a pele é limpa (degerminada) antes de uma injeção, a atividade de controle microbiano provém do fato de simplesmente remover a poeira e os micro-organismos, junto com os óleos cutâneos. Contudo, os alcoóis não são antissépticos satisfatórios quando aplicados em feridas. Eles causam a coagulação de uma camada de proteína, sob a qual as bactérias continuam a crescer.

Dois dos alcoóis mais comumente usados são o etanol e o isopropanol. A concentração ótima recomendada de etanol é 70%,

Tabela 7.6 Ação biocida de concentrações variadas de etanol em solução aquosa contra *Streptococcus pyogenes*

Concentração de etanol (%)	Tempo de exposição (seg)				
	10	20	30	40	50
100	C	C	C	C	C
95	NC	NC	NC	NC	NC
90	NC	NC	NC	NC	NC
80	NC	NC	NC	NC	NC
70	NC	NC	NC	NC	NC
60	NC	NC	NC	NC	NC
50	C	C	NC	NC	NC
40	C	C	C	C	C

Nota: C = houve crescimento; NC = não houve crescimento.

Figura 7.8 Ação oligodinâmica dos metais pesados. Zonas claras onde o crescimento bacteriano foi inibido são vistas em torno do pingente em formato de sombreiro (deslocado para o lado) e das duas moedas. O pingente e a moeda de cinco centavos norte-americana contêm prata; a moeda de um centavo contém cobre.

P As moedas usadas nessa demonstração foram cunhadas há muitos anos. Por que não foram usadas moedas atuais?

mas concentrações entre 60 e 95% também parecem funcionar (**Tabela 7.6**). O etanol puro é menos efetivo que soluções aquosas (etanol misturado com água), pois a desnaturação requer água. O isopropanol, com frequência vendido como álcool para limpeza, é levemente superior ao etanol como antisséptico e desinfetante. Além disso, é menos volátil, mais barato e mais facilmente obtido que o etanol. Purell, uma preparação comercial bastante popular usada para a limpeza das mãos, contém 62 a 65% de etanol combinado com hidratantes de pele.

O etanol e o isopropanol em geral são usados para aumentar a efetividade de outros agentes químicos. Por exemplo, uma solução aquosa de Zephiran (descrito na página 199) mata cerca de 40% da população de um organismo-teste em dois minutos, ao passo que uma tintura de Zephiran mata cerca de 85% no mesmo período. Para comparar a efetividade das tinturas e das soluções aquosas, veja a Figura 7.10 na página 200.

Metais pesados e seus compostos

Vários metais pesados podem ser biocidas ou antissépticos, incluindo a prata, o mercúrio e o cobre. A capacidade de quantidades muito pequenas de metais pesados, especialmente a prata e o cobre, de exercerem atividade antimicrobiana é referida como **ação oligodinâmica** *(oligo* significa pouco). Séculos atrás, os egípcios descobriram que colocar moedas de prata em barris de água servia para manter a água limpa de crescimento orgânico indesejável. Essa ação pode ser vista quando colocamos uma moeda ou outra peça limpa de metal contendo prata ou cobre em uma placa de Petri inoculada. Quantidades extremamente pequenas de metal são liberadas da moeda e inibem o crescimento das bactérias a uma certa distância ao redor da moeda (**Figura 7.8**). Esse efeito é produzido pela ação dos íons de metais pesados sobre os micro-organismos. Quando os íons metálicos se combinam com os grupos sulfidrila nas proteínas celulares, ocorre desnaturação.

A prata é usada como antisséptico em uma solução de *nitrato de prata* a 1%. Antigamente, muitos estados dos Estados Unidos exigiam que os olhos dos recém-nascidos fossem tratados com algumas gotas de nitrato de prata, para prevenir uma infecção dos olhos denominada oftalmia gonorreica neonatal, que os lactentes poderiam contrair ao passar pelo canal do parto. Nos últimos anos, os antibióticos substituíram o nitrato de prata para este propósito.

Recentemente tem havido um interesse renovado na prata como agente antimicrobiano. Bandagens impregnadas que liberam lentamente os íons prata demonstraram ser especialmente úteis contra bactérias resistentes aos antibióticos. O entusiasmo para a incorporação de prata em todos os tipos de produtos de consumo está aumentando. Entre os recentes produtos a venda estão as embalagens plásticas de alimentos inoculadas com nanopartículas de prata, que pretendem manter o alimento fresco, além de camisas e blusas de atletas impregnadas de prata, que prometem minimizar odores.

A fórmula mais comum é uma combinação de prata com a droga sulfadiazina, a *sulfadiazina de prata.* Ela está disponível como creme tópico para ser usado em queimaduras. A prata também pode ser incorporada a cateteres, que são uma fonte comum de infecções hospitalares, e em bandagens para curativos. A *surfacina* é um agente antimicrobiano relativamente novo que pode ser aplicado em superfícies animadas e inanimadas. Ela contém prata insolúvel em água impregnada em um polímero carreador, sendo

bastante duradoura e permanecendo no local onde foi aplicada por no mínimo 13 dias. Quando uma bactéria entra em contato com a superfície, a membrana externa da célula é reconhecida, e uma quantidade letal de íons prata é liberada.

Os compostos de mercúrio inorgânico, como o *cloreto de mercúrio,* têm uma longa história de uso como desinfetantes. Eles possuem um espectro muito amplo de atividade; seu efeito é principalmente bacteriostático. Contudo, seu uso agora é limitado devido à sua toxicidade, poder de corrosão e ineficácia em presença de matéria orgânica. Atualmente, o principal uso dos mercuriais é no controle do mofo em tintas.

O cobre em forma de *sulfato de cobre,* ou outros aditivos que contenham cobre, é usado principalmente para destruir as algas verdes (algicida) que crescem em reservatórios, tanques, piscinas e aquários. Se a água não contém matéria orgânica excessiva, os compostos de cobre são efetivos em concentrações de uma parte por milhão de água. Para prevenir o mofo, compostos de cobre como a *8-hidroxiquinolina de cobre* algumas vezes são incluídos na tinta.

Outro metal usado como antimicrobiano é o zinco. O efeito de quantidades traço de zinco pode ser visto nos telhados de prédios construídos com telhas galvanizadas (revestidas com zinco). O telhado adquire cor mais clara onde o crescimento biológico, na maioria das vezes algas, é impedido. Telhas tratadas com cobre e zinco já estão sendo comercializadas. O *cloreto de zinco* é um ingrediente comum em soluções para bochecho, e o *piritionato de zinco* é um componente presente em formulações de xampus anticaspa.

Agentes de superfície

Os **agentes de superfície** (**tensoativos** ou **surfactantes**) podem reduzir a tensão superficial entre as moléculas de um líquido. Esses agentes incluem os sabões e os detergentes.

Sabões e detergentes. O sabão tem pouco valor como antisséptico, mas tem uma função importante na remoção mecânica dos micro-organismos pela esfregação. A pele normalmente contém células mortas, pó, suor seco, micro-organismos e secreções oleosas das glândulas sebáceas. O sabão rompe o filme oleoso em gotículas pequenas, um processo denominado *emulsificação,* e água e sabão juntos removem o óleo emulsificado e os resíduos e os fazem flutuar para longe à medida que a pele é lavada. Nesse sentido, os sabões são bons agentes degerminantes.

Sanitizantes ácido-aniônicos. Os desinfetantes de superfície *ácido-aniônicos* são muito importantes na limpeza de utensílios e equipamentos para laticínios. Sua capacidade de limpeza está relacionada à porção carregada (ânion) da molécula, que reage com a membrana plasmática. Eles atuam sobre um amplo espectro de micro-organismos, incluindo as problemáticas bactérias termodúricas, são atóxicos, não corrosivos e possuem rápida ação.

Compostos quaternários de amônio (quats). Os agentes de superfície mais amplamente usados são os detergentes catiônicos, em especial os **compostos quaternários de amônio** (**quats**). Sua capacidade de limpeza está relacionada à parte positivamente carregada

Íon amônio

Cloreto de benzalcônio

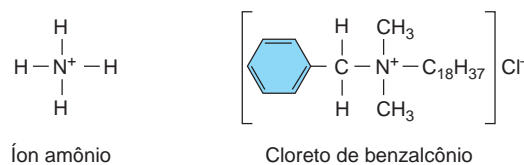



Figura 7.9 O íon amônio e um composto quaternário de amônio, o cloreto de benzalcônio (Zephiran). Observe como outros grupos substituem os hidrogênios do íon amônio.

P Os quats são mais eficazes contra bactérias gram-positivas ou gram--negativas?

– o cátion – da molécula. Seu nome é derivado do fato de que eles são modificações do íon amônio de quatro valências, NH_4^+ (**Figura 7.9**). Os compostos quaternários de amônio são bactericidas fortes contra as bactérias gram-positivas e um pouco menos ativos contra as gram-negativas (veja a Figura 7.6).

Os quats também são fungicidas, amebicidas e viricidas contra vírus envelopados. Eles não matam os endosporos ou as micobactérias. (Veja o quadro na página 201.) Seu modo de ação química é desconhecido, mas eles provavelmente afetam a membrana plasmática. Eles alteram a permeabilidade celular e causam a perda de constituintes citoplasmáticos essenciais, como o potássio.

Dois quats populares são o Zephiran, o nome comercial do *cloreto de benzalcônio* (veja a Figura 7.9), e o Cepacol, o nome comercial do *cloreto de cetilpiridínio.* Eles são antimicrobianos fortes, incolores, inodoros, insípidos, estáveis, facilmente solúveis e atóxicos, exceto em altas concentrações. Se o seu frasco de líquido para higiene oral se enche de espuma quando sacudido, o produto provavelmente contém um quat em sua composição. Contudo, a matéria orgânica interfere com sua atividade, e eles são neutralizados pelos sabões e detergentes aniônicos.

Qualquer pessoa interessada nas aplicações médicas dos quats deve se lembrar de que certas bactérias, como algumas espécies de *Pseudomonas,* não somente sobrevivem nos compostos quaternários de amônio, como também crescem ativamente neles. Esses micro-organismos são resistentes às soluções desinfetantes e às gazes e bandagens embebidas nestas soluções, uma vez que as fibras tendem a neutralizar os quats.

Antes de abordarmos o próximo grupo de agentes químicos, consulte a **Figura 7.10**, que compara a efetividade de alguns dos antissépticos discutidos.

Conservantes químicos de alimentos

Os conservantes químicos frequentemente são adicionados aos alimentos para retardar sua deterioração. O *dióxido de enxofre* (SO_2) tem sido usado como desinfetante há bastante tempo, especialmente na fabricação de vinho. Homero mencionou o seu uso em *A odisseia,* escrito cerca de 2800 anos atrás. Entre os aditivos mais comuns estão o benzoato de sódio, o ácido sórbico e o propionato de cálcio. Essas substâncias químicas são ácidos orgânicos simples ou sais de ácidos orgânicos, que o corpo metaboliza prontamente e que em geral são considerados seguros em alimentos. O *ácido sórbico,* ou seu sal mais solúvel, o *sorbato de potássio,* e o *benzoato de sódio* impedem os bo-

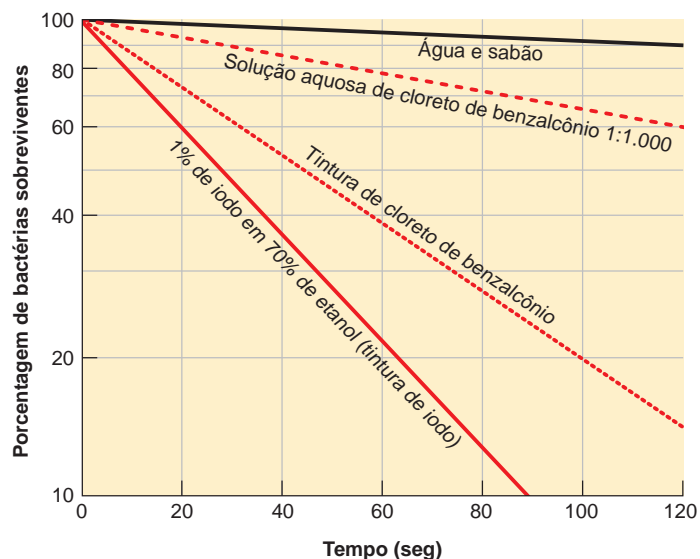



Figura 7.10 Uma comparação da efetividade de vários antissépticos. Quanto maior a inclinação para baixo da curva de morte do antisséptico, mais eficaz ele é. Uma solução de 1% de iodo em 70% de etanol é a mais eficaz; a água e o sabão são os menos eficazes. Observe que uma tintura de cloreto de benzalcônio é mais eficaz que uma solução aquosa do mesmo antisséptico.

P Por que a tintura de cloreto de benzalcônio é mais eficaz que a solução aquosa?

lores de crescerem em certos alimentos ácidos, como o queijo e os refrigerantes. Tais alimentos, geralmente com um pH de 5,5 ou menos, são mais suscetíveis à deterioração pelo mofo. O *propionato de cálcio,* um fungistático efetivo usado em pães, previne o crescimento de bolores em superfícies e da bactéria *Bacillus,* que deteriora o pão. Esses ácidos orgânicos inibem o crescimento de bolores, não por afetar o pH, mas por interferir no metabolismo do bolor ou na integridade de sua membrana plasmática.

O *nitrato de sódio* e o *nitrito de sódio* são adicionados a muitos produtos derivados de carne, como o presunto, o bacon, as salsichas e as linguiças. O ingrediente ativo é o nitrito de sódio, que certas bactérias na carne também podem produzir a partir do nitrato de sódio. Essas bactérias usam o nitrato como um substituto do oxigênio em condições anaeróbicas. O nitrito tem duas funções principais: preservar a agradável cor vermelha da carne ao reagir com os componentes do sangue e prevenir a germinação e o crescimento de quaisquer endosporos botulínicos que possam estar presentes. O nitrito inibe seletivamente algumas enzimas de *Clostridium botulinum*. Tem havido alguma preocupação, pois a reação dos nitritos com os aminoácidos pode formar certos produtos carcinogênicos conhecidos como **nitrosaminas**, e a quantidade de nitritos adicionados aos alimentos, de modo geral, foi reduzida recentemente por esta razão. Contudo, o uso de nitritos continua devido ao seu valor comprovado na prevenção do botulismo. Como as nitrosaminas são formadas no corpo a partir de outras fontes, o risco adicional apresentado por um uso limitado de nitratos e nitritos na carne é inferior ao que se pensava anteriormente.

Antibióticos

Os antimicrobianos discutidos neste capítulo não são úteis para ingestão ou injeção no tratamento de doenças. Antibióticos são usados para este objetivo. O uso de antibióticos é altamente restrito; contudo, no mínimo dois têm utilização considerável na conservação dos alimentos. Nenhum deles tem valor para fins clínicos. A *nisina* (veja a página 578), frequentemente adicionada ao queijo para inibir o crescimento de certas bactérias formadoras de endosporos que causam deterioração, é um exemplo de bacteriocina, uma proteína que é produzida por uma bactéria e que inibe outra (veja o Capítulo 8, página 239). A nisina está naturalmente presente em pequenas quantidades em muitos laticínios. Ela é insípida, facilmente digerida e atóxica. A *natamicina* (pimaricina) é um antibiótico antifúngico aprovado para uso em alimentos, principalmente para os queijos.

Aldeídos

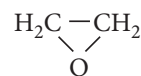
Os **aldeídos** estão entre os antimicrobianos mais efetivos. Dois exemplos são o formaldeído e o glutaraldeído. Eles inativam proteínas formando ligações cruzadas covalentes com vários grupos funcionais orgânicos nas proteínas (—NH_2, —OH, —COOH e —SH). O *gás de formaldeído* é um excelente desinfetante. Contudo, sua forma mais comumente disponível é *a formalina,* uma solução aquosa a 37% de gás de formaldeído. A formalina antigamente era bastante usada para conservar amostras biológicas e tornar inativas as bactérias e os vírus nas vacinas.

O *glutaraldeído* é um produto químico menos irritante e mais efetivo que o formaldeído. O glutaraldeído é usado para desinfetar instrumentos hospitalares, incluindo endoscópios e equipamentos de terapia respiratória, mas eles precisam ser primeiramente limpos de forma cuidadosa. Quando usado em uma solução a 2% (Cidex), é bactericida, tuberculocida e viricida em 10 minutos e esporocida em 3 a 10 horas. O glutaraldeído é um dos poucos desinfetantes químicos líquidos que pode ser considerado um agente esterilizante. Contudo, 30 minutos frequentemente são considerados o tempo máximo permitido para a atuação de um esporocida, que é um critério que o glutaraldeído não pode atender. Tanto o glutaraldeído quanto a formalina são usados por agentes funerários para embalsamar.

Um possível substituto para muitos usos do glutaraldeído é o *orto-fitalaldeído* (OFA), que é mais efetivo contra a maioria dos micro-organismos, sendo pouco irritante.

Esterilização química

A esterilização com o uso de agentes químicos líquidos é possível, mas mesmo substâncias químicas esporocidas como o glutaraldeído normalmente não são consideradas esterilizantes na prática. Entretanto, os quimioesterilizantes gasosos frequentemente são utilizados como substituintes de processos físicos de esterilização. Sua aplicação requer a utilização de uma câmara fechada similar a uma autoclave. Provavelmente, o exemplo mais comum seja o *óxido de etileno:*

$$H_2C - CH_2 \quad (\text{ligados por } O)$$

FOCO CLÍNICO

Infecção após a injeção de esteroides

Neste quadro você encontrará uma série de questões que agentes de controle de infecções se perguntam quando tentam descobrir a origem de uma infecção. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. Durante um período de três meses, um médico infectologista reportou ao departamento de saúde 12 pacientes com infecções causadas por *Mycobacterium abscessus* em articulações e tecidos moles. Micobactérias de crescimento lento, incluindo *M. tuberculosis* e *M. leprae*, são patógenos humanos. Estas infecções, entretanto, foram causadas por micobactérias de crescimento rápido (RGMs, de *rapidly growing mycobacteria*).

   Onde estas RGMs normalmente são encontradas? (Dica: leia a página 320.)

2. Todos os 12 pacientes receberam injeções para artrite do mesmo médico. O procedimento de injeção consistia na limpeza da pele com chumaços de algodão embebidos em uma solução de Zephiran (1:10), seguidas de antissepsia com *swabs* embebidos em solução de iodo comercial, anestesia da área com 0,5 mL de lidocaína a 1% aplicado com agulha e seringa estéreis, e injeção de 0,5 a 1,0 mL de betametasona (um corticoide) nas articulações.

   Como determinar a origem da infecção?

3. Culturas foram feitas a partir de *swabs* da superfície interna dos recipientes de metal que armazenam pinças e chumaços de algodão. Culturas também foram feitas a partir dos *swabs* de iodo, dos chumaços de algodão com Zephiran, das soluções de lidocaína e betametasona, do Zephiran diluído e não diluído e de uma garrafa lacrada de água destilada usada para diluir o Zephiran.

   Que tipo de desinfetante é o Zephiran?

4. *M. abscessus* foram isoladas apenas de chumaços de algodão embebidos em Zephiran. Um ensaio de disco-difusão foi realizado (veja a figura).

   Quais foram os dois problemas ocorridos, e como você preveniria futuras infecções?

5. Zephiran diluído não é eficaz contra *M. abscessus*, e a capacidade desinfetante de Zephiran e de outros quats é reduzida pela presença de matéria orgânica, como chumaços de algodão. Para evitar a inoculação de bactérias em pacientes, chumaços de algodão não deveriam ser armazenados no desinfetante.

Fonte: Adaptado de *Clinical Infections Diseases* 36:954-962 (2003).

Sua atividade depende da *alquilação*, isto é, da substituição de átomos de hidrogênio lábeis das proteínas de um determinado grupo químico (como –SH, –COOH ou $–CH_2CH_2OH$) por um radical. Isso ocasiona a formação de ligações cruzadas em ácidos nucleicos e proteínas, e inibe as funções celulares vitais. O óxido de etileno mata todos os micro-organismos e endosporos, mas requer um período de exposição prolongado de várias horas. Ele é tóxico e explosivo em sua forma pura; assim, normalmente é misturado a um gás não inflamável, como o dióxido de carbono. Entre suas vantagens está o fato de que é possível realizar processos de esterilização à temperatura ambiente e ele é altamente penetrante. Devido à sua capacidade de esterilizar sem calor, alguns hospitais possuem câmaras de óxido de etileno – algumas grandes o suficiente para esterilizar colchões – como parte de seu equipamento de esterilização.

O *dióxido de cloro* é um gás de curta duração que em geral é preparado no local de sua utilização. Notavelmente, ele tem sido utilizado na fumigação de ambientes fechados contaminados com endosporos de antraz. O dióxido de cloro mais estável em soluções aquosas. Seu uso mais comum é no tratamento de água, antes da etapa de cloração, onde seu objetivo é remover ou reduzir a formação de alguns compostos carcinogênicos algumas vezes formados durante a cloração.

Plasmas

Além dos três tradicionais estados da matéria – líquido, gasoso e sólido – um quarto estado deve ser considerado, o plasma. **Plasma** é um estado da matéria no qual um gás é excitado, nesse caso por um campo eletromagnético, para formar uma mistura de núcleos com cargas elétricas variáveis e elétrons livres. Instituições de saúde enfrentam cada vez mais o desafio de esterilizar instrumentos cirúrgicos plásticos ou metálicos utilizados em muitos procedimentos modernos de cirurgias artroscópicas e laparoscópicas. Esses instrumentos possuem tubos longos e ocos, muitos com um diâmetro interior de apenas alguns milímetros, e são difíceis de serem esterilizados. A *esterilização por plasma* é um método confiável para essa finalidade. Os instrumentos são colocados em um recipiente onde uma combinação de vácuo, campo eletromagnético e substâncias químicas como peróxido de hidrogênio (algumas vezes acompanhado de ácido peracético) forma o plasma. Este plasma possui muitos radicais livres, que rapidamente destroem até mesmo micro-organismos formadores de endosporos. A vantagem deste processo, que possui elementos de esterilização tanto química quanto física, é a de requerer apenas baixas temperaturas, embora seja relativamente caro.

Fluidos supercríticos

O uso de fluidos supercríticos em processos de esterilização combina métodos físicos e químicos. Quando dióxido de carbono é comprimido até o ponto de atingir um estado "supercrítico", ele apresenta propriedades tanto de líquido (com solubilidade aumentada) quanto de gás (com tensão superficial diminuída). Organismos expostos a *dióxido de carbono supercrítico* são inativados, incluindo

a maioria dos organismos vegetativos que causam deterioração e que se desenvolvem em alimentos. Mesmo a inativação dos endosporos requer apenas uma temperatura de cerca de 45ºC. Utilizado há vários anos no tratamento de alimentos, o dióxido de carbono supercrítico tem sido usado recentemente para descontaminar implantes, como ossos, tendões ou ligamentos retirados de pacientes doadores.

Peroxigênios e outras formas de oxigênio

Os **peroxigênios** são um grupo de agentes oxidantes que inclui peróxido de hidrogênio e ácido peracético.

O *peróxido de hidrogênio* é um antisséptico encontrado em muitos armários de remédio domésticos e em salas de suprimentos hospitalares. Ele não é um bom antisséptico para feridas abertas, sendo rapidamente degradado em água e oxigênio gasoso pela ação da enzima catalase, que está presente nas células humanas (veja o Capítulo 6, página 162). Contudo, o peróxido de hidrogênio desinfeta efetivamente objetos inanimados, e chega a apresentar efeito esporocida nestas aplicações, especialmente em concentrações elevadas. Em uma superfície inerte, as enzimas normalmente protetoras das bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas são suplantadas pelas altas concentrações de peróxido usadas. Devido a esses fatores, e à sua rápida degradação em água e oxigênio, a indústria de alimentos está aumentando a utilização de peróxido de hidrogênio no empacotamento asséptico (veja a Figura 28.4). Os materiais de empacotamento passam por uma solução quente do produto antes de serem transformados em uma embalagem. Além disso, muitos usuários de lentes de contato estão familiarizados com a desinfecção por peróxido de hidrogênio. Após a desinfecção, um catalisador de platina no kit de desinfecção da lente destrói o peróxido de hidrogênio residual, para que ele não permaneça na lente, onde poderia causar irritação ocular.

Peróxido de hidrogênio aquecido pode ser usado como um esterilizante gasoso. Ele não é tão penetrante quanto o óxido de etileno e não pode ser usado para esterilizar produtos têxteis ou líquidos.

O *ácido peracético* (PAA, *ácido peroxiático*) é um dos mais efetivos esporocidas químicos líquidos disponíveis e pode ser usado como esterilizante. Seu modo de ação é similar ao do peróxido de hidrogênio. Geralmente é efetivo em endosporos e vírus em 30 minutos e mata as bactérias na forma vegetativa e os fungos em menos de cinco minutos. O ácido peracético tem muitas aplicações na desinfecção de equipamentos médicos e de processamento de alimentos, especialmente endoscópios, pois não deixa resíduos tóxicos (apenas água e pequenas quantidades de ácido acético) e é minimamente afetado pela presença de matéria orgânica. A FDA aprovou o uso do PAA para lavagem de frutas e vegetais.

Outros agentes oxidantes incluem o *peróxido de benzoíla,* provavelmente mais conhecido como o principal componente dos medicamentos de venda livre (*over-the-counter* – OTC) para acne. O *ozônio* (O_3) é uma forma altamente reativa do oxigênio, gerada pela passagem de oxigênio por descargas elétricas de alta voltagem (veja a Figura 27.16, página 783). Ele é responsável pelo odor fresco do ar após um relâmpago, próximo a faíscas elétricas ou à luz ultravioleta. O ozônio frequentemente é usado para complementar a cloração na desinfecção da água, pois ajuda a neutralizar sabores e odores. Embora o ozônio seja um agente bactericida mais efetivo que o cloro, sua atividade residual dificilmente é mantida em água.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que a escolha do desinfetante seria importante se você desejasse desinfetar uma superfície contaminada por vômito e uma superfície contaminada por perdigotos? **7-7**
- ✓ O que é mais viável de ser usado em um laboratório clínico, um teste de uso-diluição ou um teste de difusão em disco? **7-8**
- ✓ Por que o álcool é efetivo contra alguns vírus e não contra outros? **7-9**
- ✓ A betadina é um antisséptico ou um desinfetante quando utilizada na pele? **7-10**
- ✓ Quais características tornam os agentes de superfície interessantes para a indústria de laticínios? **7-11**
- ✓ Quais desinfetantes químicos podem ser considerados esporocidas? **7-12**
- ✓ Quais substâncias químicas podem ser usadas para esterilização? **7-13**

Características e controle microbiano

OBJETIVO DO APRENDIZADO

7-14 Explicar como o controle do crescimento microbiano é afetado pelo tipo de micro-organismo.

Muitos biocidas tendem a ser mais eficientes contra bactérias gram-positivas, enquanto grupo, do que contra bactérias gram-negativas. Esse princípio é ilustrado na **Figura 7.11**, que apresenta uma hierarquia simplificada da resistência relativa dos principais grupos de biocidas microbianos. Um fator fundamental nessa resistência relativa a biocidas é a camada externa de lipopolissacarídeos das bactérias gram-negativas. Entre as bactérias gram-negativas, membros do gênero *Pseudomonas* e *Burkholderia* são de especial interesse. Essas bactérias estritamente relacionadas são muito resistentes aos biocidas (veja a Figura 7.6) e são capazes de crescer ativamente em alguns desinfetantes e antissépticos, mais especificamente em compostos quaternários de amônio. No Capítulo 20, você verá que essas bactérias também são resistentes a muitos antibióticos. Essa resistência a antimicrobianos químicos está relacionada principalmente às características de suas *porinas* (orifícios presentes na parede das bactérias gram-negativas; veja a Figura 4.13c, página 86). As porinas selecionam as moléculas que penetram na célula.

As micobactérias são outro grupo de bactérias não formadoras de endosporos que exibem uma resistência maior que o normal aos biocidas químicos (veja o quadro na página 201). Esse grupo inclui o *Mycobacterium tuberculosis,* o patógeno que causa a tuberculose. A parede celular desse organismo, e de outros membros desse gênero, possui um componente céreo e rico em lipídeos. As instruções nos rótulos de desinfetantes frequentemente especifi-

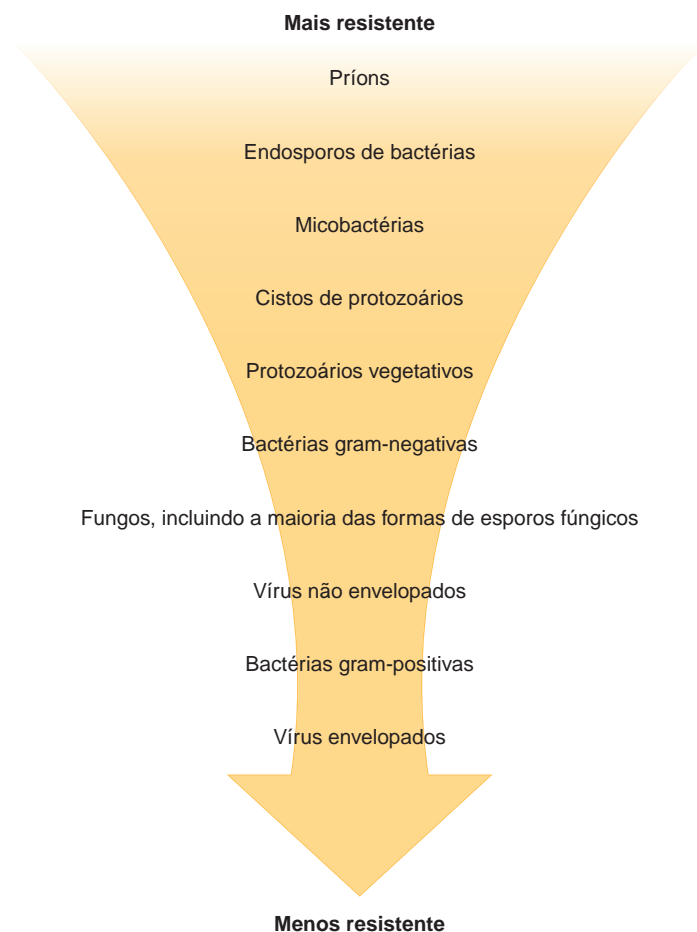



Figura 7.11 **Ordem decrescente de resistência de micro-organismos a biocidas químicos.**

P **Por que os vírus com envelopes lipídicos são relativamente suscetíveis a certos biocidas?**

cam se o produto é tuberculocida, indicando se é eficiente contra as micobactérias. Testes tuberculocidas especiais foram desenvolvidos para avaliar a eficácia dos biocidas contra esse grupo bacteriano.

Os endosporos bacterianos são afetados por relativamente poucos biocidas. (A ação dos principais antimicrobianos químicos contra as micobactérias e os endosporos está resumida na **Tabela 7.7**.) Os cistos e oocistos dos protozoários também são relativamente resistentes à desinfecção química.

Os vírus não são especialmente resistentes aos biocidas, com exceção dos vírus que possuem envelope lipídico. Os agentes antimicrobianos que são lipossolúveis possuem maior probabilidade de serem eficientes contra os vírus envelopados. O rótulo desse tipo de agente indicará que ele é efetivo contra vírus lipofílicos. Os vírus não envelopados, que possuem apenas um revestimento proteico, são mais resistentes – uma quantidade menor de biocidas é efetiva contra eles.

Tabela 7.7 **Eficácia dos antimicrobianos químicos contra endosporos e micobactérias**

Agentes químicos	Endosporos	Micobactéria
Mercúrio	Sem atividade	Sem atividade
Fenólicos	Baixa	Boa
Bifenóis	Sem atividade	Sem atividade
Compostos quaternários de amônio	Sem atividade	Sem atividade
Cloro e derivados	Leve	Leve
Iodo	Baixa	Boa
Alcoóis	Baixa	Boa
Glutaraldeído	Leve	Boa
Clorexidina	Sem atividade	Leve

Um problema que ainda não foi completamente resolvido é a eliminação dos príons. Os príons são proteínas infecciosas que causam doenças neurológicas, as encefalopatias espongiformes, como a doença popularmente conhecida como "síndrome da vaca louca" (veja o Capítulo 22, página 631). Para destruir os príons, as carcaças de animais infectados são incineradas. Um grande problema, no entanto, é a desinfecção de instrumentos cirúrgicos expostos à contaminação por príons. O processo normal de autoclave é comprovadamente inadequado. A Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) recomendam o uso combinado de uma solução de hidróxido de sódio e da autoclave a uma temperatura de 134°C. Contudo, estudos recentes mostraram que instrumentos cirúrgicos foram tratados com eficácia para a inativação dos príons, que são proteínas, pela adição de proteases à solução de lavagem.

Em resumo, é importante lembrar que os métodos de controle microbianos, especialmente os biocidas, não apresentam eficácia uniforme contra todos os micro-organismos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Sabe-se que a presença ou a ausência de endosporos interfere no controle microbiano, mas por que as bactérias gram-negativas são mais resistentes aos biocidas que as bactérias gram-positivas? **7-14**

* * *

A **Tabela 7.8** resume os agentes químicos usados para controlar o crescimento microbiano.

Os compostos discutidos neste capítulo geralmente não são úteis no tratamento de doenças. Os antibióticos e os patógenos contra os quais eles são ativos serão discutidos no Capítulo 20.

Tabela 7.8 Agentes químicos usados no controle do crescimento microbiano

Agente químico	Mecanismo de ação	Uso preferencial	Comentário
Fenol e compostos fenólicos			
1. Fenol	Ruptura da membrana plasmática, desnaturação das enzimas.	Raramente usado, exceto como padrão de comparação.	Raramente usado como desinfetante ou antisséptico devido às possibilidades de irritação e odor desagradável.
2. Compostos fenólicos	Ruptura da membrana plasmática, desnaturação das enzimas.	Superfícies ambientais, instrumentos, superfícies cutâneas e membranas mucosas.	Os derivados do fenol são reativos mesmo em presença de material orgânico; um exemplo é o O-fenilfenol.
3. Bifenóis	Provavelmente ruptura da membrana plasmática.	Sabonetes para as mãos e loções hidratantes.	O triclosano é um exemplo especialmente comum de um bifenol. É de amplo espectro, porém mais eficaz contra gram-positivos.
Biguanidas (clorexidina)	Ruptura da membrana plasmática.	Antissepsia da pele, especialmente para escovação cirúrgica.	Bactericida contra gram-positivos e gram-negativos, atóxico, persistente.
Halogênios	O iodo inibe a função das proteínas e é um forte agente oxidante; o cloro forma o agente oxidante forte ácido hipocloroso, que altera os componentes celulares.	O iodo é um antisséptico eficaz disponível como tintura e como iodóforo; o gás cloro é usado para desinfetar a água; os compostos de cloro são usados para desinfetar o equipamento de fábricas de laticínios, utensílios para refeições, itens domésticos e vidrarias.	O iodo e o cloro podem agir isoladamente ou como componentes de compostos inorgânicos e orgânicos.
Alcoóis	Desnaturação das proteínas e dissolução dos lipídeos.	Termômetros e outros instrumentos; ao limpar a pele com álcool antes de uma injeção, a maior parte da ação desinfetante provavelmente provém de simplesmente remover (degerminar) o pó e alguns micro-organismos.	Bactericida e fungicida, mas ineficaz contra endosporos ou vírus não envelopados; alcoóis comumente usados são o etanol e o isopropanol.
Metais pesados e seus compostos	Desnaturação das enzimas e outras proteínas essenciais.	O nitrato de prata pode ser usado para prevenir a oftalmia gonorreica neonatal; a sulfadiazina de prata pode ser usada como um creme tópico para as queimaduras; o sulfato de cobre é um algicida.	Os metais pesados como a prata e o mercúrio são biocidas.
Agentes de superfície			
Sabões e detergentes	Remoção mecânica de micro-organismos por meio de escovação.	Degerminação da pele e remoção de resíduos.	Muitos sabões antibacterianos contêm antimicrobianos.
Sanitizantes ácido-aniônicos	Incerto; pode envolver a inativação ou a ruptura de enzimas.	Sanitização em indústrias de processamento de laticínios e alimentos.	Amplo espectro de atividade; atóxicos, não corrosivos e de ação rápida.
Compostos quaternários de amônio (detergentes catiônicos)	Inibição enzimática, desnaturação das proteínas, ruptura das membranas plasmáticas.	Antisséptico para a pele, instrumentos, utensílios, objetos de borracha.	Bactericidas, bacteriostáticos, fungicidas e viricidas contra vírus envelopados; exemplos de quat são o Cepacol e o Zephiran.
Conservantes químicos de alimentos			
Ácidos orgânicos	Inibição metabólica, afetando principalmente os bolores; a ação não está relacionada à acidez.	Ácido sórbico e ácido benzoico efetivos em baixo pH; parabenos muito usado em cosméticos e xampus; propionato de cálcio usado no pão.	Amplamente usados para controlar bolores e algumas bactérias em alimentos e cosméticos.
Nitratos/nitritos	O componente ativo é o nitrito, que é produzido pela ação de bactérias sobre o nitrato. Os nitritos inibem algumas enzimas dos anaeróbicos.	Produtos derivados da carne como presunto, bacon, salsichas e linguiças.	Previnem o crescimento de *Clostridium botulinum* em alimentos; também conferem coloração avermelhada.

Tabela 7.8 (continuação)

Agente químico	Mecanismo de ação	Uso preferencial	Comentário
Aldeídos	Desnaturação das proteínas.	O glutaraldeído (Cidex) é menos irritante que o formaldeído e é usado para a desinfecção de equipamentos médicos.	Antimicrobianos muito efetivos.
Esterilização química			
Óxido de etileno e outros esterilizantes gasosos	Inibe funções vitais da célula.	Principalmente para esterilização de objetos que seriam danificados pelo calor.	O óxido de etileno é o mais comumente usado. Peróxido de hidrogênio aquecido e dióxido de cloro apresentam usos específicos.
Esterilização por plasma	Inibe funções vitais da célula.	Especialmente útil para instrumentos médicos tubulares.	Geralmente peróxido de hidrogênio excitado em vácuo por um campo eletromagnético.
Fluidos supercríticos	Inibem funções vitais da célula.	Especialmente úteis para a esterilização de implantes médicos.	Dióxido de carbono comprimido a um estado supercrítico.
Peroxigênios e outras formas de oxigênio	Oxidação.	Superfícies contaminadas; alguns ferimentos profundos, em que eles são muito efetivos contra os anaeróbicos sensíveis ao oxigênio.	O ozônio é amplamente usado como suplemento para a cloração; o peróxido de hidrogênio é um antisséptico fraco, mas um bom desinfetante. O ácido peracético é especialmente efetivo.

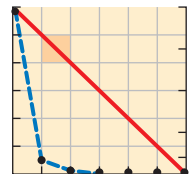
RESUMO PARA ESTUDO

A terminologia do controle microbiano

(p. 185, 186)

1. O controle do crescimento microbiano pode prevenir infecções e a deterioração dos alimentos.
2. A esterilização é o processo de remoção ou destruição de toda a vida microbiana em um objeto.
3. A esterilização comercial é o tratamento com calor dos alimentos enlatados para destruir os endosporos de C. botulinum.
4. A desinfecção é o processo que visa reduzir ou inibir o crescimento microbiano em uma superfície inanimada.
5. Antissepsia é o processo de redução ou inibição dos micro-organismos em tecidos vivos.
6. O sufixo *-cida* significa matar; o sufixo *-statico* significa inibir.
7. Sepse é a contaminação bacteriana.

A taxa de morte microbiana (p. 186)

1. As populações bacterianas sujeitas ao calor ou a produtos químicos antimicrobianos normalmente morrem a uma taxa constante.
2. Esta curva de mortalidade, quando representada logaritmicamente, mostra a taxa constante de morte como uma linha reta.
3. O tempo necessário para a morte de uma população microbiana é proporcional ao número de micro-organismos.
4. As espécies microbianas e as fases do ciclo de vida (p. ex., endosporos) possuem diferentes suscetibilidades aos controles físico e químico.
5. A presença de matéria orgânica pode interferir nos tratamentos de calor e na utilização de agentes de controle químico.
6. Exposições prolongadas a menos calor podem produzir o mesmo efeito que um período mais curto sob calor mais intenso.

Ações dos agentes de controle microbiano (p. 186, 187)

Alteração na permeabilidade da membrana (p. 186)

1. A suscetibilidade da membrana plasmática se deve a seus componentes lipídicos e proteicos.

2. Certos agentes de controle químico lesam a membrana plasmática, alterando sua permeabilidade.

Danos às proteínas e aos ácidos nucleicos (p. 187)

3. Alguns agentes de controle microbiano lesam as proteínas celulares ao romper as ligações de hidrogênio e as ligações covalentes.
4. Outros agentes interferem com a replicação do DNA e do RNA e com a síntese proteica.

Métodos físicos de controle microbiano

(p. 187-194)

Calor (p. 188-191)

1. O calor frequentemente é usado para eliminar micro-organismos.
2. O calor úmido mata os micro-organismos pela desnaturação das enzimas.
3. O ponto de morte térmica (PMT) é a menor temperatura em que todos os micro-organismos em uma cultura líquida serão mortos em 10 minutos.
4. O tempo de morte térmica (TMT) é a duração de tempo necessária para matar todas as bactérias em uma cultura líquida a uma dada temperatura.
5. O tempo de redução decimal (TRD) é a duração de tempo necessária para que 90% de uma população bacteriana sejam mortos a uma dada temperatura.
6. A fervura (100°C) mata muitas células vegetativas e vírus em 10 minutos.
7. A autoclave (vapor sob pressão) é o método mais efetivo de esterilização com calor úmido. O vapor deve entrar em contato direto com o material a ser esterilizado.
8. Na pasteurização HTST, uma alta temperatura é usada por um curto período (72°C por 15 segundos) para destruição dos patógenos sem alterar o sabor do alimento. O tratamento com temperaturas ultraelevadas (UHT) (140°C por 4 segundos) é usado para esterilizar laticínios.
9. Os métodos de esterilização com calor seco incluem a chama direta, a incineração e a esterilização com ar quente. O calor seco mata por oxidação.
10. Diferentes métodos que produzem o mesmo efeito (redução no crescimento microbiano) são denominados tratamentos equivalentes.

Filtração (p. 191)

11. A filtração é a passagem de um líquido ou gás através de um filtro com poros pequenos o suficiente para reter os micro-organismos.
12. Os micro-organismos podem ser removidos do ar por filtros de partículas de alta eficiência (HEPA).
13. Os filtros de membrana compostos de ésteres de celulose são comumente usados para filtrar bactérias, vírus e mesmo proteínas de alto peso molecular.

Baixas temperaturas (p. 191, 192)

14. A eficácia das baixas temperaturas depende do micro-organismo e da intensidade da aplicação.
15. A maioria dos micro-organismos não se reproduz em temperaturas comuns de refrigerador (0 a 7°C).
16. Muitos micro-organismos sobrevivem (mas não crescem) nas temperaturas abaixo de zero, usadas para armazenar alimentos.

Alta pressão (p. 192)

17. A alta pressão desnatura as proteínas das células na forma vegetativa.

Dessecação (p. 192)

18. Na ausência de água, os micro-organismos não podem crescer, mas podem permanecer viáveis.
19. Vírus e endosporos podem resistir à dessecação.

Pressão osmótica (p. 192)

20. Os micro-organismos em altas concentrações de sais e açúcares sofrem plasmólise.
21. Os bolores e as leveduras são mais capazes que as bactérias de crescer em materiais com baixa umidade ou alta pressão osmótica.

Radiação (p. 192-194)

22. Os efeitos da radiação dependem de seu comprimento de onda, intensidade e duração.
23. A radiação ionizante (raios gama, raios X e feixes de elétrons de alta energia) tem um alto grau de penetração e exerce seu efeito principalmente ionizando a água e formando radicais hidroxila altamente reativos.
24. A radiação ultravioleta (UV), uma forma de radiação não ionizante, tem baixo grau de penetração e causa lesão celular pela formação de dímeros de timina no DNA, que interferem na replicação do DNA; o comprimento de onda germicida mais efetivo é 260 nm.
25. As micro-ondas podem matar os micro-organismos indiretamente à medida que os materiais se aquecem.

Métodos químicos de controle microbiano (p. 195-202)

1. Os agentes químicos são usados em tecidos vivos (como antissépticos) e em objetos inanimados (como desinfetantes).
2. Poucos agentes químicos proporcionam a esterilidade.

Princípios da desinfecção efetiva (p. 195)

3. Muita atenção deve ser dada às propriedades e à concentração do desinfetante a ser usado.
4. A presença de matéria orgânica, o grau de contato com os micro-organismos e a temperatura também devem ser considerados.

Avaliando um desinfetante (p.195)

5. No teste de uso-diluição, a sobrevivência bacteriana na diluição de um desinfetante recomendada pelo fabricante é determinada.
6. Vírus, bactérias formadoras de endosporos, micobactérias e fungos também podem ser usados no teste de uso-diluição.
7. No método de disco-difusão, um disco de papel de filtro é embebido em uma substância química e colocado em uma placa de ágar inoculada; a presença de uma zona de inibição indica efetividade.

Tipos de desinfetantes (p.195-202)

Fenol e compostos fenólicos (p. 195)

8. Os compostos fenólicos exercem sua ação lesando as membranas plasmáticas.

Bifenóis (p. 196)

9. Bifenóis, como o triclosano (venda liberada) e o hexaclorofeno (prescrito), são amplamente usados em produtos domésticos.

Biguanidas (p. 196, 197)

10. As biguanidas lesam as membranas plasmáticas das células na forma vegetativa.

Halogênios (p. 197)

11. Alguns halogênios (iodo e cloro) são usados isoladamente ou como componentes de soluções inorgânicas ou orgânicas.

12. O iodo pode ser combinado com certos aminoácidos para inativar enzimas e outras proteínas celulares.
13. O iodo está disponível como tintura (em solução com álcool) ou como iodóforo (combinado a uma molécula orgânica).
14. A ação germicida do cloro baseia-se na formação de ácido hipocloroso quando o cloro é adicionado à água.

Alcoóis (p. 197, 198)

15. Os alcoóis exercem sua ação desnaturando as proteínas e dissolvendo os lipídeos.
16. Em tinturas, eles aumentam a efetividade de outros produtos químicos antimicrobianos.
17. O etanol aquoso (60 a 95%) e o isopropanol são usados como desinfetantes.

Metais pesados e seus compostos (p. 198, 199)

18. Prata, mercúrio, cobre e zinco são usados como germicidas.
19. Eles exercem sua ação antimicrobiana pela ação oligodinâmica. Quando os íons de metal pesado se combinam com os grupos sulfidrila (–SH), as proteínas são desnaturadas.

Agentes de superfície (p. 199)

20. Os agentes de superfície reduzem a tensão entre as moléculas de um líquido; os sabões e os detergentes são exemplos.
21. Os sabões possuem ação germicida limitada, mas auxiliam na remoção dos micro-organismos pela escovação.
22. Os detergentes ácido-aniônicos são usados para limpeza do equipamento de laticínios.
23. Os quats são detergentes catiônicos unidos ao NH_4^+.
24. Ao romperem as membranas plasmáticas, eles permitem o vazamento dos constituintes citoplasmáticos para fora da célula.
25. Os quats são mais efetivos contra as bactérias gram-positivas.

Conservantes químicos de alimentos (p. 199, 200)

26. O SO_2, o ácido sórbico, o ácido benzoico e o ácido propiônico inibem o metabolismo fúngico e são usados como conservantes de alimentos.
27. Os sais de nitrato e nitrito impedem a germinação de endosporos de *Clostridium botulinum* na carne.

Antibióticos (p. 200)

28. A nisina e a natamicina são antibióticos usados para conservar alimentos, especialmente o queijo.

Aldeídos (p. 200)

29. Os aldeídos como o formaldeído e o glutaraldeído exercem seu efeito antimicrobiano pela inativação das proteínas.
30. Eles estão entre os mais efetivos desinfetantes químicos.

Esterilização química (p. 200, 201)

31. O óxido de etileno é o gás mais frequentemente usado para a esterilização.
32. Ele penetra na maioria dos materiais e mata todos os micro-organismos por desnaturação das proteínas.

Plasmas (p. 201)

33. Radicais livres em gases na forma de plasma são usados para esterilizar instrumentos plásticos.

Fluidos supercríticos (p. 201, 202)

34. Fluidos supercríticos, que apresentam propriedades de líquidos e gases, podem esterilizar em baixas temperaturas.

Peroxigênios e outras formas de oxigênio (p. 202)

35. Peróxido de hidrogênio, ácido peracético, peróxido de benzoíla e ozônio exercem seu efeito antimicrobiano por meio da oxidação de moléculas nas células.

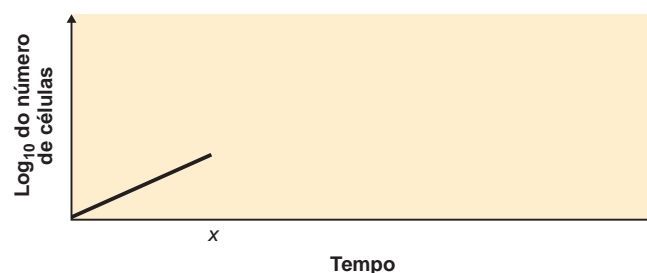
Características e controle microbiano (p. 202 -205)

1. As bactérias gram-negativas geralmente são mais resistentes que as bactérias gram-positivas aos desinfetantes e antissépticos.
2. As micobactérias, os endosporos, os cistos e os oocistos dos protozoários são muito resistentes aos desinfetantes e aos antissépticos.
3. Os vírus não envelopados geralmente são mais resistentes que os vírus envelopados aos desinfetantes e antissépticos.
4. Os príons são resistentes à desinfecção e à autoclave.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. O tempo de morte térmica para uma suspensão de endosporos de *Bacillus subtilis* é de 30 minutos em calor seco e menos de 10 minutos em uma autoclave. Que tipo de calor é mais efetivo? Por quê?
2. Se a pasteurização não atinge a esterilização, por que o alimento é tratado por pasteurização?
3. O ponto de morte térmica não é considerado uma medida precisa da efetividade da esterilização por calor. Liste três fatores que podem alterar o ponto de morte térmica.
4. O efeito antimicrobiano da radiação gama é devido a (a) _______________. O efeito antimicrobiano da radiação ultravioleta é devido a (b) _________________.
5. **DESENHE** Uma cultura bacteriana estava em fase log na seguinte figura. No tempo *x*, um composto antibacteriano foi adicionado à cultura. Desenhe as linhas que representam a adição de um composto bactericida e de um composto bacteriostático. Explique por que a contagem viável não cai imediatamente para zero em *x*.

6. Como a autoclave, o ar quente e a pasteurização ilustram o conceito de tratamentos equivalentes?
7. Como os sais e os açúcares conservam os alimentos? Por que esses são considerados métodos físicos e não métodos químicos de controle

microbiano? Cite um alimento que é conservado com açúcar e outro conservado com sal. Como você justifica o crescimento ocasional do fungo *Penicillium* na geleia, que é 50% sacarose?

8. Os valores do teste de uso-diluição para dois desinfetantes testados sob as mesmas condições são: desinfetante A – 1:2; desinfetante B – 1:10.000. Se ambos os desinfetantes são apropriados para o mesmo objetivo, qual deles você selecionaria?
9. Um grande hospital banha os pacientes queimados em uma banheira de aço inoxidável. Após cada paciente, a banheira é limpa com um quat. Percebeu-se que 14 dos 20 pacientes queimados adquiriram infecções por *Pseudomonas* após serem banhados. Explique esta alta taxa de infecção.

Múltipla escolha

1. Qual dos seguintes processos *não* mata endosporos?
   a. Autoclave.
   b. Incineração.
   c. Esterilização com ar quente.
   d. Pasteurização.
   e. Todas as alternativas.
2. Qual alternativa seguinte é mais efetiva para esterilizar colchões e placas de Petri plásticas?
   a. Cloro.
   b. Óxido de etileno.
   c. Glutaraldeído.
   d. Autoclave.
   e. Radiação não ionizante.
3. Qual destes desinfetantes *não* atua rompendo a membrana plasmática?
   a. Compostos fenólicos.
   b. Fenol.
   c. Compostos quaternários de amônio.
   d. Halogênios.
   e. Biguanidas.
4. Qual alternativa seguinte *não pode* ser usada para esterilizar uma solução sensível ao calor armazenada em um recipiente plástico?
   a. Radiação gama.
   b. Óxido de etileno.
   c. Radiação não ionizante.
   d. Autoclave.
   e. Radiação de ondas curtas.
5. Qual alternativa seguinte *não* é uma característica dos compostos quaternários de amônio?
   a. Bactericida contra bactérias gram-positivas.
   b. Esporicida.
   c. Amebicida.
   d. Fungicida.
   e. Mata os vírus envelopados.
6. Um colega está tentando determinar como um desinfetante pode matar as células. Você observou que, quando ele espalhou o desinfetante em seu leite-litmus reduzido (um reagente que fica vermelho em soluções ácidas, e azul em alcalinas), o litmus ficou novamente azul. Você sugere para seu colega que:
   a. O desinfetante pode inibir a síntese da parede celular.
   b. O desinfetante pode oxidar as moléculas.
   c. O desinfetante pode inibir a síntese proteica.
   d. O desinfetante pode desnaturar as proteínas.
   e. Ele leve o trabalho dele para longe do seu.
7. Qual dos seguintes processos mais provavelmente seja um bactericida?
   a. Filtração de membrana.
   b. Radiação ionizante.
   c. Liofilização (congelamento-dessecação).
   d. Congelamento profundo.
   e. Todas as alternativas.
8. Qual alternativa seguinte é usada para controlar o crescimento microbiano em alimentos?
   a. Ácidos orgânicos. **d.** Metais pesados.
   b. Alcoóis. **e.** Todas as alternativas.
   c. Aldeídos.

Utilize a informação a seguir para responder às questões 9 e 10. Os dados foram obtidos de um teste de uso-diluição comparando quatro desinfetantes contra *Salmonella choleraesuis*. C = presença de crescimento; NC = ausência de crescimento.

	Crescimento bacteriano após exposição a			
Diluição	**Desinfetante A**	**Desinfetante B**	**Desinfetante C**	**Desinfetante D**
1:2	NC	C	NC	NC
1:4	NC	C	NC	C
1:8	NC	C	C	C
1:16	C	C	C	C

9. Qual desinfetante é o mais efetivo?
10. Quais desinfetante(s) é(são) bactericida(s)?
    a. A, B, C e D.
    b. A, C e D.
    c. Somente A.
    d. Somente B.
    e. Nenhuma das alternativas.

Pensamento crítico

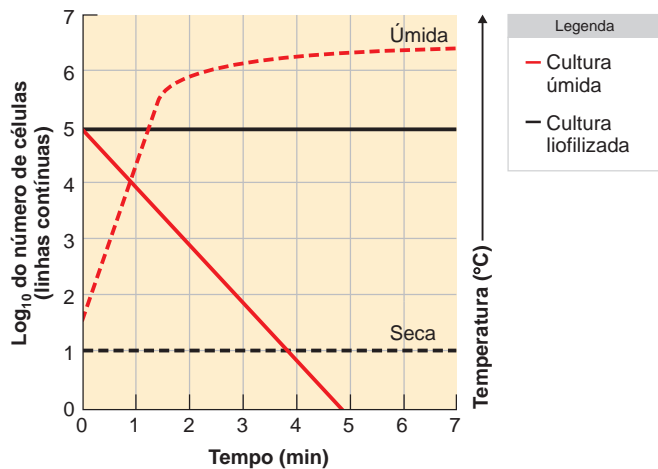
1. O método de disco-difusão foi usado para avaliar três desinfetantes. Os resultados foram os seguintes:

Desinfetante	Zona de inibição
X	0 mm
Y	5 mm
Z	10 mm

   a. Qual desinfetante foi o mais efetivo contra o organismo?
   b. Você pode determinar se o composto Y foi bactericida ou bacteriostático?
2. Por que cada uma das seguintes bactérias frequentemente é resistente aos desinfetantes?
   a. *Mycobacterium.*
   b. *Pseudomonas.*
   c. *Bacillus.*
3. O teste de uso-diluição foi usado para avaliar dois desinfetantes contra *Salmonella choleraesuis.* Os resultados foram os seguintes:

	Crescimento bacteriano após exposição		
Tempo de exposição (min)	**Desinfetante A**	**Desinfetante B diluído com água destilada**	**Desinfetante B diluído com água de torneira**
10	C	NC	C
20	C	NC	NC
30	NC	NC	NC

   a. Qual desinfetante foi o mais efetivo?
   b. Qual desinfetante deveria ser usado contra *Staphylococcus*?

4. Para determinar a ação letal da radiação de micro-ondas, duas suspensões de *E. coli* a 10^5 foram preparadas. Uma suspensão de células foi exposta à radiação de micro-ondas enquanto úmida e a outra foi liofilizada (congelamento e descongelamento) e então exposta à radiação. Os resultados são mostrados na figura a seguir. As linhas pontilhadas indicam a temperatura das amostras. Qual o método mais provável de ação letal da radiação de micro-ondas? Como você supõe que esses dados possam diferir para *Clostridium?*

Aplicações clínicas

1. *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* foram isoladas das fezes de um homem de 45 anos, e *Shigella sonnei* foi isolada das fezes de uma mulher de 18 anos. Ambos os pacientes tiveram diarreia, cólicas abdominais intensas e, antes do início dos sintomas digestivos, ambos foram tratados pelo mesmo quiroprático. O quiroprático administrou irrigações colônicas (enemas) nesses pacientes. O dispositivo usado para esse tratamento foi um aparato dependente de gravidade utilizando 12 litros de água da torneira. Não havia válvulas para impedir o refluxo, e assim, todas as partes do aparelho poderiam ter se contaminado com fezes durante cada tratamento colônico. O quiroprático fornecia tratamento colônico para quatro ou cinco pacientes por dia. Entre os pacientes, a peça do adaptador que é inserida no reto era colocada em um "esterilizador de água quente".

   Quais os dois erros cometidos pelo quiroprático?

2. Entre 9 de março e 12 de abril, cinco pacientes de diálise peritoneal crônica em um hospital foram infectados com *Pseudomonas aeruginosa.* Quatro pacientes desenvolveram peritonite (inflamação da cavidade abdominal) e um desenvolveu uma infecção de pele no local da inserção do cateter. Todos os pacientes com peritonite tiveram febre baixa, líquido peritoneal turvo e dor abdominal. Todos os pacientes tinham cateteres de demora peritoneais permanentes, que a enfermeira limpava com gaze embebida em uma solução de iodóforo cada vez que o cateter era conectado ou desconectado da máquina. Alíquotas de iodóforo eram transferidas das garrafas de estoque para pequenos frascos em uso. Culturas do concentrado dialisado e das áreas internas das máquinas de diálise foram negativas; o iodóforo de um frasco plástico pequeno em uso produziu uma cultura pura de *P. aeruginosa.* Que técnica inadequada levou a esta infecção?

3. Onze pacientes receberam injeções de metilprednisolona e lidocaína para aliviar a dor e a inflamação da artrite na mesma clínica de cirurgia ortopédica. Todos eles desenvolveram artrite séptica causada por *Serratia marcescens.* Os frascos fechados de metilprednisolona do mesmo lote foram testados e eram estéreis; a metilprednisolona era conservada com um quat. Bolas de algodão foram usadas para limpar os frascos de injeção para múltiplos usos, antes da medicação ser coletada em uma seringa descartável. O local de injeção em cada paciente também foi limpo com uma bola de algodão. As bolas eram embebidas em cloreto de benzalcônio, e bolas novas eram adicionadas ao pote à medida que era esvaziado. Os recipientes de metilprednisolona abertos e o pote de bolas de algodão continham S. *marcescens.* Como a infecção foi transmitida? Que parte do procedimento de rotina causou a contaminação?

8 Genética Microbiana

Praticamente todas as características microbianas sobre as quais você leu nos capítulos iniciais são controladas ou influenciadas pela hereditariedade. As características hereditárias dos micróbios incluem sua forma e características estruturais, seu metabolismo, sua habilidade de se mover ou de se comportar de vários modos e sua capacidade de interagir com outros organismos – talvez causando doenças. Os organismos individuais transmitem essas características à sua prole através dos genes.

Pesquisadores estão tentando resolver o difícil problema médico da resistência aos antibióticos. Os micro-organismos podem se tornar resistentes aos antibióticos de várias formas, e todas dependem da genética. O surgimento de *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina (VRSAs) constitui uma séria ameaça no cuidado aos pacientes. Neste capítulo, você verá como os VRSAs adquirem esta característica.

As doenças emergentes são outra razão da importância de se conhecer a genética. Novas doenças são o resultado da mudança genética em alguns organismos existentes; por exemplo, *E. coli* O157:H7 adquire os genes codificadores da Shiga, a toxina da *Shigella*.

Atualmente, os microbiologistas estão utilizando a genética para descobrir a relação entre os organismos, explorar a origem de micro-organismos como o HIV e o vírus *West Nile* e estudar o potencial dos vírus *Influenza* de aves para infectar humanos.

SOB O MICROSCÓPIO

Cromossomos bacterianos. Um único cromossomo, em geral firmemente empacotado dentro de uma célula bacteriana, foi expelido de uma célula de *E. coli* após a parede celular e a membrana plasmática terem sido danificadas.

P&R

Uma menina de dois anos de idade foi levada a um setor de emergência com diarreia sanguinolenta, vômito, febre e falha renal. Ela foi diagnosticada com síndrome urêmica hemolítica causada por *E. coli* O157:H7. A *E. coli* é naturalmente encontrada no intestino grosso humano, onde é benéfica. Entretanto, a amostra designada *E. coli* O157:H7 produz a toxina Shiga, que causa doença grave e tem surgido como causa importante de infecções alimentares. Como a *E. coli* adquire este gene da *Shigella*?

Procure pela resposta neste capítulo.

Estrutura e função do material genético

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

8-1 Definir *genética*, *genoma*, *cromossomo*, *gene*, *código genético*, *genótipo*, *fenótipo* e *genômica*.

8-2 Descrever como o DNA serve de informação genética.

8-3 Descrever o processo da replicação do DNA.

8-4 Descrever síntese proteica, incluindo transcrição, processamento de RNA e tradução.

8-5 Comparar a síntese proteica em procarióticos e eucarióticos.

Genética é a ciência da hereditariedade; ela inclui o estudo do que são os genes, como eles transportam informação, como são replicados e passados para as gerações seguintes de células ou transmitidos entre organismos, e como a expressão de sua informação dentro de um organismo determina as características particulares daquele organismo. A informação genética em uma célula é chamada de **genoma**. O genoma de uma célula inclui seus cromossomos e plasmídeos. Os **cromossomos** são estruturas contendo DNA que transportam fisicamente a informação hereditária; os cromossomos contêm os genes. **Genes** são segmentos de DNA (exceto em alguns RNAs vírus) que codificam produtos funcionais. Vimos no Capítulo 2 que o DNA é uma macromolécula composta de unidades repetidas denominadas *nucleotídeos*. Lembre-se que cada nucleotídeo consiste em uma base nitrogenada (adenina, timina, citosina ou guanina), uma desoxirribose (um açúcar pentose) e um grupo fosfato (veja a Figura 2.16, página 48). O DNA dentro de uma célula existe como longos filamentos de nucleotídeos, retorcidos em pares, para formar uma hélice dupla. Cada filamento possui uma fileira alternando açúcar e grupo fosfato (seu *esqueleto de açúcar-fosfato*) e uma base nitrogenada aderida a cada açúcar no esqueleto. As duas fitas são mantidas juntas por ligações de hidrogênio entre suas bases nitrogenadas. Os **pares de bases** sempre ocorrem de modo específico: a adenina sempre pareia com a timina, e a citosina sempre pareia com a guanina. Devido a esse pareamento específico de bases, a sequência de bases de uma fita de DNA determina a sequência da outra fita. As duas fitas de DNA são, portanto, *complementares*.

A estrutura do DNA ajuda a explicar as duas características principais do armazenamento de informação biológica. Primeiro, a sequência linear de bases fornece a informação real. A informação genética é codificada pela sequência de bases ao longo do DNA, de modo muito similar a como nossa linguagem escrita utiliza uma sequência linear de letras para formar palavras e sentenças. A linguagem genética, entretanto, utiliza um alfabeto contendo somente quatro letras – os quatro tipos de bases nitrogenadas no DNA (ou RNA). Porém, mil dessas quatro bases, o número contido em um gene de tamanho médio, podem ser arranjadas de 4^{1000} formas diferentes. Esse número astronômico explica como os genes podem ter variações suficientes para fornecer toda a informação que uma célula necessita para crescer e realizar suas funções. O **código genético**, o grupo de regras que determina como uma sequência de nucleotídeos é convertida na sequência de aminoácidos de uma proteína, será discutido em mais detalhes posteriormente neste capítulo.

Segundo, a estrutura complementar permite a duplicação precisa do DNA durante a divisão celular. Cada célula-filha recebe uma das fitas originais parentais, assegurando, então, uma das fitas que funcionará corretamente.

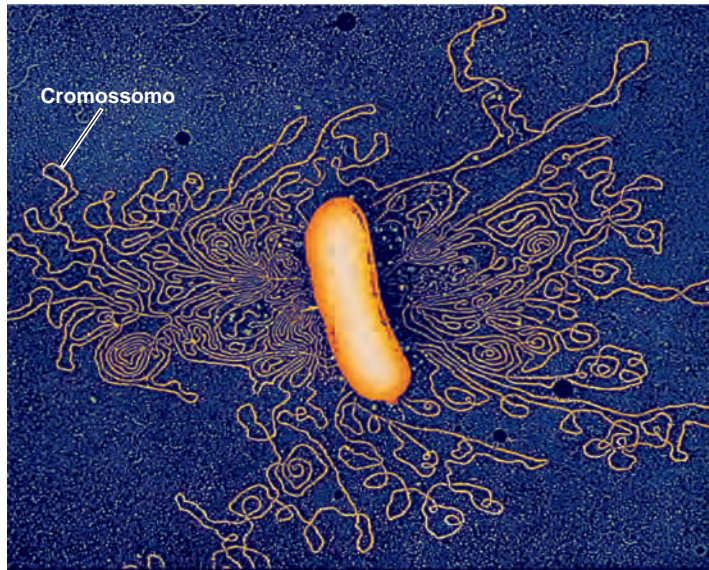
Boa parte do metabolismo celular está relacionada à tradução da mensagem genética dos genes em proteínas específicas. Um gene normalmente codifica uma molécula de RNA mensageiro (mRNA), que finalmente resulta na formação de uma proteína. Alternativamente, o produto do gene pode ser um RNA ribossômico (rRNA) ou um RNA de transferência (tRNA). Como veremos, todos estes tipos de RNA estão envolvidos no processo da síntese proteica. Quando a molécula final que um gene codifica (uma proteína, por exemplo) foi produzida, dizemos que o gene foi *expresso*.

Genótipo e fenótipo

O **genótipo** de um organismo é sua composição genética, a informação que codifica todas as características particulares do organismo. O genótipo representa as propriedades *potenciais*, mas não as propriedades em si. O **fenótipo** refere-se às propriedades *reais*, *expressas*, como a capacidade do organismo de realizar uma reação química em particular. O fenótipo, então, é a manifestação do genótipo.

Em termos moleculares, o genótipo de um organismo é sua coleção de genes, todo o seu DNA. O que constitui o fenótipo do organismo em termos moleculares? Em um sentido, um fenótipo é sua coleção de proteínas. A maioria das propriedades da célula deriva das estruturas e funções de suas proteínas. Nos micróbios, a maioria das proteínas é *enzimática* (catalisa reações particulares) ou *estrutural* (participa em grandes complexos funcionais como as membranas ou os flagelos). Mesmo os fenótipos que dependem de outras macromoléculas estruturais que não as proteínas (como os lipídeos ou polissacarídeos) baseiam-se indiretamente nas proteínas. Por exemplo, a estrutura de uma molécula de lipídeo complexo ou polissacarídeo resulta das atividades catalíticas das enzimas que sintetizam, processam e degradam as moléculas. Portanto, embora não seja totalmente preciso dizer que os fenótipos são devidos somente às proteínas, essa é uma simplificação útil.

DNA e cromossomos

As bactérias tipicamente possuem um único cromossomo circular consistindo de uma única molécula circular de DNA com proteínas associadas. O cromossomo é recurvado e dobrado e está aderido à membrana plasmática em um ou vários pontos. O DNA da *E. coli*, a espécie bacteriana mais estudada, tem cerca de 4,6 milhões de pares de bases e possui cerca de 1 mm de comprimento – mil vezes maior que toda a célula (**Figura 8.1a**). Contudo, o cromossomo ocupa ape-

(a) A massa enovelada e os filamentos retorcidos de DNA emergindo dessa célula rompida de *E. coli* são parte de seu cromossomo único.

MET 1 μm

(b) Um mapa genético do cromossomo da *E. coli*. Os números dentro do círculo indicam os minutos gastos para transferir os genes durante o pareamento entre duas células; os números coloridos nos quadros indicam o número de pares de bases.

Figura 8.1 **Um cromossomo procariótico.**

P **O que é um gene? O que é uma janela aberta de leitura (*open-reading frame*)?**

nas cerca de 10% do volume celular uma vez que o DNA é torcido ou *superenovelado* – muito mais que uma corda de telefone quando colocado de volta na base.

A localização dos genes no cromossomo bacteriano pode ser determinada por experimentos envolvendo a transferência de genes de uma célula para outra. Esses processos serão discutidos mais adiante neste capítulo. O mapa do cromossomo bacteriano resultante é marcado em minutos que correspondem a quando os genes são transferidos de uma célula doadora para uma célula receptora (**Figura 8.1b**).

Em anos recentes, as sequências completas de base de vários cromossomos bacterianos foram determinadas. Computadores são utilizados para procurar pelas *janelas abertas de leitura*, que são as regiões do DNA que codificam as proteínas. Como você verá posteriormente, estas janelas são sequências de bases entre códons de iniciação (*Start codons*) e de parada (*Stop codons*). O sequenciamento e a caracterização molecular dos genomas são denominados **genômica**. O uso da genômica para rastrear o vírus *West Nile* é descrito no quadro da página 223.

O fluxo da informação genética

A replicação do DNA possibilita o fluxo de informação genética de uma geração para a seguinte. Como mostrado na **Figura 8.2**, o DNA de uma célula se replica antes da divisão celular, de modo que cada célula-filha recebe um cromossomo idêntico ao da original. Dentro de cada célula realizando metabolismo, a informação genética contida no DNA flui de outro modo: ela é transcrita em mRNA e então traduzida em proteína. Descreveremos os processos de transcrição e tradução mais adiante neste capítulo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Dê uma aplicação clínica da genômica. **8-1**
- ✓ Por que o pareamento de bases no DNA é importante? **8-2**

Replicação do DNA

Na replicação do DNA, uma molécula de DNA de fita dupla "parental" é convertida em duas moléculas "filhas" idênticas. A estrutura complementar das sequências de bases nitrogenadas na molécula de DNA é a chave para a compreensão da replicação do DNA. Como as bases ao longo das duas fitas do DNA de hélice dupla são complementares, uma fita pode agir como molde para a produção da outra (**Figura 8.3a**).

A replicação do DNA requer a presença de muitas proteínas celulares que dirigem uma determinada sequência de eventos. Enzimas envolvidas na replicação do DNA e em outros processos são listadas na **Tabela 8.1**, na página 215. Quando a replicação se inicia, o superenovelamento é relaxado pela *topoisomerase* ou *girase*, e as duas fitas de DNA parental são desenroladas pela *helicase* e separadas uma da outra em um pequeno segmento de DNA após o outro. Os nucleotídeos livres presentes no citoplasma da célula são pareados das bases expostas da fita simples do DNA parental. Onde a timina está presente na fita original, somente a adenina pode se fixar na nova fita; onde a guanina está presente na fita parental, somente a citosina pode se encaixar, e assim por diante.

Figura 8.2

FIGURA FUNDAMENTAL O fluxo da informação genética

Utilizando o exemplo de uma bactéria com um cromossomo circular único, esta figura resume como a informação genética é usada e passada entre as células. Pequenas versões da parte principal desta figura de visão geral irão aparecer em outras figuras ao longo do capítulo para indicar a relação de diferentes processos.

Uma célula usa a informação genética contida no DNA para fazer suas proteínas, incluindo as enzimas. Esta informação é transmitida para a próxima geração durante a divisão celular. O DNA pode ser transferido para células de uma mesma geração, resultando em novas combinações de genes.

Conceito-chave

O DNA é o projeto para as proteínas celulares, sendo obtido de uma célula parental ou de outra célula.

Quaisquer bases incorretamente pareadas são removidas e substituídas pelas enzimas de replicação. Uma vez alinhado, o nucleotídeo recém-adicionado é unido à fita em crescimento por uma enzima denominada **DNA-polimerase**. Então, o DNA parental se desenrola mais um pouco para permitir a adição do próximo nucleotídeo. O ponto no qual a replicação ocorre é denominado *forquilha de replicação*.

À medida que a forquilha de replicação move-se ao longo da fita parental, cada uma das fitas simples desenroladas se combina ou pareia com novos nucleotídeos. A fita original e a fita-filha recém-sintetizada se enovelam. Uma vez que cada nova molécula de DNA de fita dupla contém uma fita original (conservada) e uma fita nova, o processo de replicação é descrito como **replicação semiconservativa**.

Antes de examinar em mais detalhe a replicação do DNA, observe com mais atenção a estrutura do DNA (veja a Figura 2.16, na página 48). É importante compreender o conceito de que as fitas de DNA pareadas estão orientadas em direções opostas uma em relação à outra. Observe na Figura 2.16 que os átomos de carbono do açúcar componente de cada nucleotídeo são numerados de 1 (pronunciado "um linha") a 5'. Para que as bases pareadas fiquem ao lado uma da outra, os açúcares que compõem uma fita estão de cabeça para baixo um em relação ao outro. A extremidade que tem uma hidroxila aderida ao carbono 3' é denominada extremidade 3' da fita do DNA; a extremidade que tem um fosfato aderido ao carbono 5' é chamada de extremidade 5'. A forma como as duas fitas se encaixam decreta que a direção 5' → 3' de uma fita vai ao encontro da direção 5' → 3' da outra fita (**Figura 8.3b**). Essa estrutura de DNA

(a) A forquilha de replicação.

(b) As duas fitas de DNA são antiparalelas. O esqueleto de açúcar-fosfato de uma fita está alinhado de cabeça para baixo em relação ao esqueleto da outra fita. Vire o livro de cabeça para baixo para comprovar este fato.

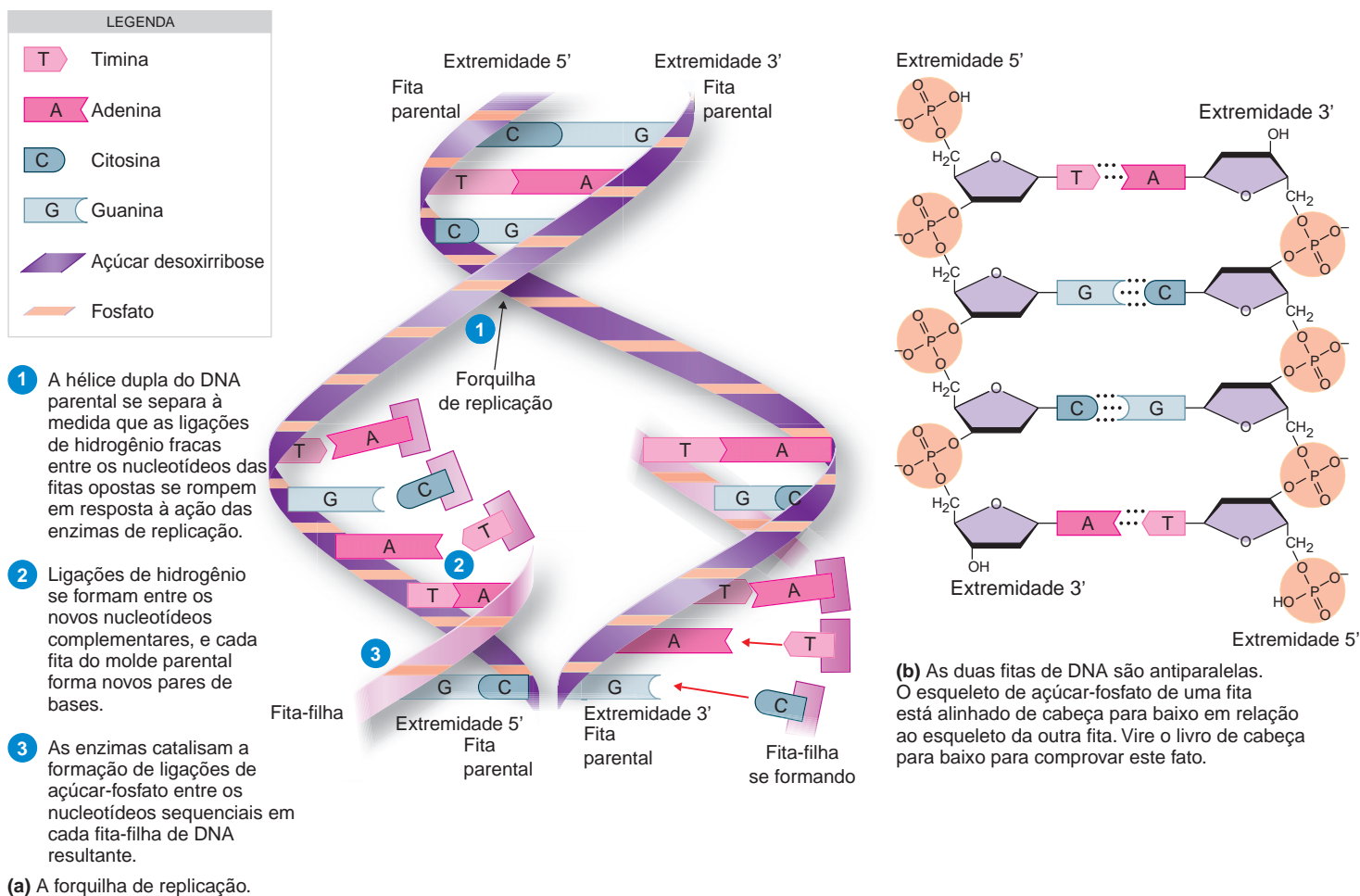



Figura 8.3 Replicação do DNA.

P O que significa replicação semiconservativa?

afeta o processo de replicação, pois as DNA-polimerases podem adicionar novos nucleotídeos somente à extremidade 3'. Portanto, enquanto a forquilha de replicação se movimenta ao longo do DNA parental, as duas novas fitas devem crescer em direções diferentes.

A replicação do DNA necessita de um grande gasto energético. Essa energia é fornecida pelos nucleotídeos, que são, na verdade, nucleosídeos trifosfato. Você já sabe sobre o ATP; a única diferença entre o ATP e o nucleotídeo adenina no DNA é o componente açúcar. A desoxirribose é o açúcar nos nucleosídeos trifosfato utilizados para sintetizar o DNA, e os nucleosídeos trifosfato com ribose são usados para sintetizar o RNA. Dois grupos fosfato são removidos para adicionar o nucleotídeo à fita de DNA em crescimento; a hidrólise do nucleosídeo é exergônica e fornece energia para criar novas ligações na fita de DNA (**Figura 8.4**).

A **Figura 8.5** fornece mais detalhes sobre as muitas etapas que ocorrem nesse processo complexo.

A replicação do DNA de algumas bactérias, como a *E. coli*, segue *bidirecionalmente* ao redor do cromossomo (**Figura 8.6**). Duas forquilhas de replicação movem-se em direções opostas, para longe da origem de replicação. Como o cromossomo bacteriano é uma alça fechada, as forquilhas eventualmente se encontram quando a replicação está completada. As duas alças precisam ser separadas por uma topoisomerase. Muitas evidências mostram uma associação entre a membrana plasmática bacteriana e a origem de replicação. Após a duplicação, se cada cópia da origem se ligasse à membrana em um polo oposto, então cada célula-filha receberia uma cópia da molécula de DNA – isto é, um cromossomo completo.

A replicação do DNA é um processo surpreendentemente acurado. Tipicamente, os erros são cometidos em uma taxa de somente 1 em cada 10^{10} bases incorporadas. Essa precisão em boa parte ocorre devido à capacidade de *correção* (*proofreading*) da DNA-polimerase. À medida que cada base nova é adicionada, a enzima avalia se a estrutura do pareamento formada está correta. Caso contrário, a enzima remove a base inapropriada e a substitui pela correta. Desse modo, o DNA pode ser replicado de maneira precisa,

Tabela 8.1	Enzimas importantes na replicação, na expressão e no reparo do DNA
DNA-girase	Relaxa o superenovelamento acima da forquilha de replicação
DNA-ligase	Forma ligações covalentes para ligar as fitas de DNA; liga os fragmentos de *Okazaki* e os novos segmentos no reparo de excisão
DNA-polimerase	Sintetiza o DNA; corrige e repara o DNA
Endonuclease	Corta o esqueleto de DNA em uma fita de DNA; facilita o reparo e as inserções
Exonuclease	Corta o DNA em uma extremidade exposta; facilita o reparo
Helicase	Desenovela o DNA de fita dupla
Metilase	Adiciona o grupo metil às bases selecionadas na nova fita de DNA
Fotoliase	Utiliza a energia da luz visível para separar os dímeros de pirimidina induzidos pela luz UV
Primase	Produz iniciadores de RNA a partir de um molde de DNA
Ribozima	Enzima de RNA que remove íntrons e processa éxons conjuntamente
RNA-polimerase	Copia RNA a partir de um molde de DNA
snRNP	Complexo RNA-proteína que remove íntrons e processa éxons conjuntamente
Topoisomerase	Relaxa o superenovelamento acima da forquilha de replicação; separa DNA circular no final da replicação
Transposase	Corta o esqueleto de DNA, formando extremidades coesivas

permitindo que cada cromossomo-filho possa ser quase idêntico ao parental.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Descreva a replicação do DNA, incluindo as funções da DNA-girase, da DNA-ligase e da DNA-polimerase. **8-3**

RNA e síntese proteica

Como a informação no DNA é utilizada para produzir as proteínas que controlam as atividades celulares? No processo de *transcrição*, a informação genética é copiada no DNA, ou transcrita, em uma sequência de bases de RNA. A célula usa, então, a informação codificada neste RNA para sintetizar proteínas específicas pelo processo de *tradução*. Observaremos agora como esses dois processos ocorrem na célula bacteriana.

Figura 8.4 Adicionando um nucleotídeo ao DNA.

P Por que uma fita está "de cabeça para baixo" em relação à outra fita? Por que as duas fitas não podem se alinhar no mesmo sentido?

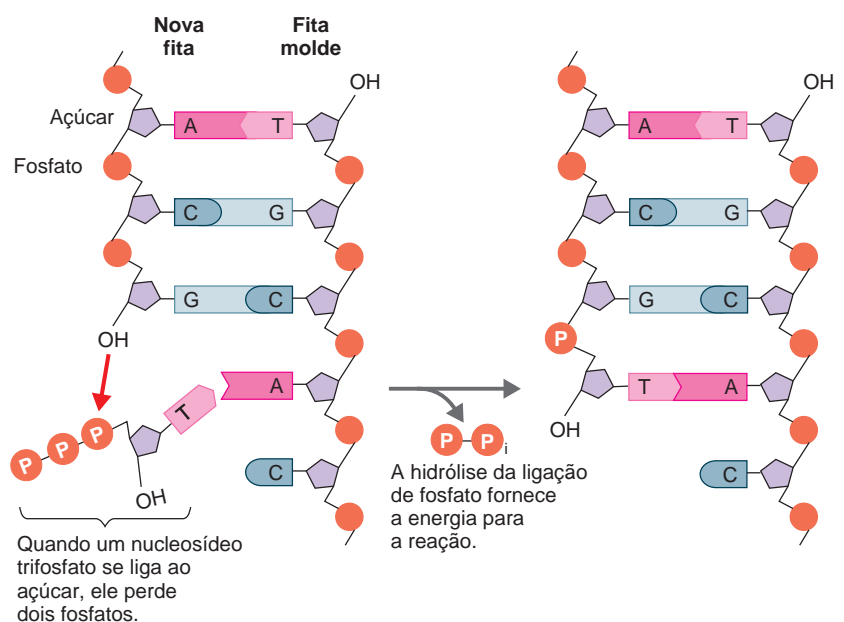
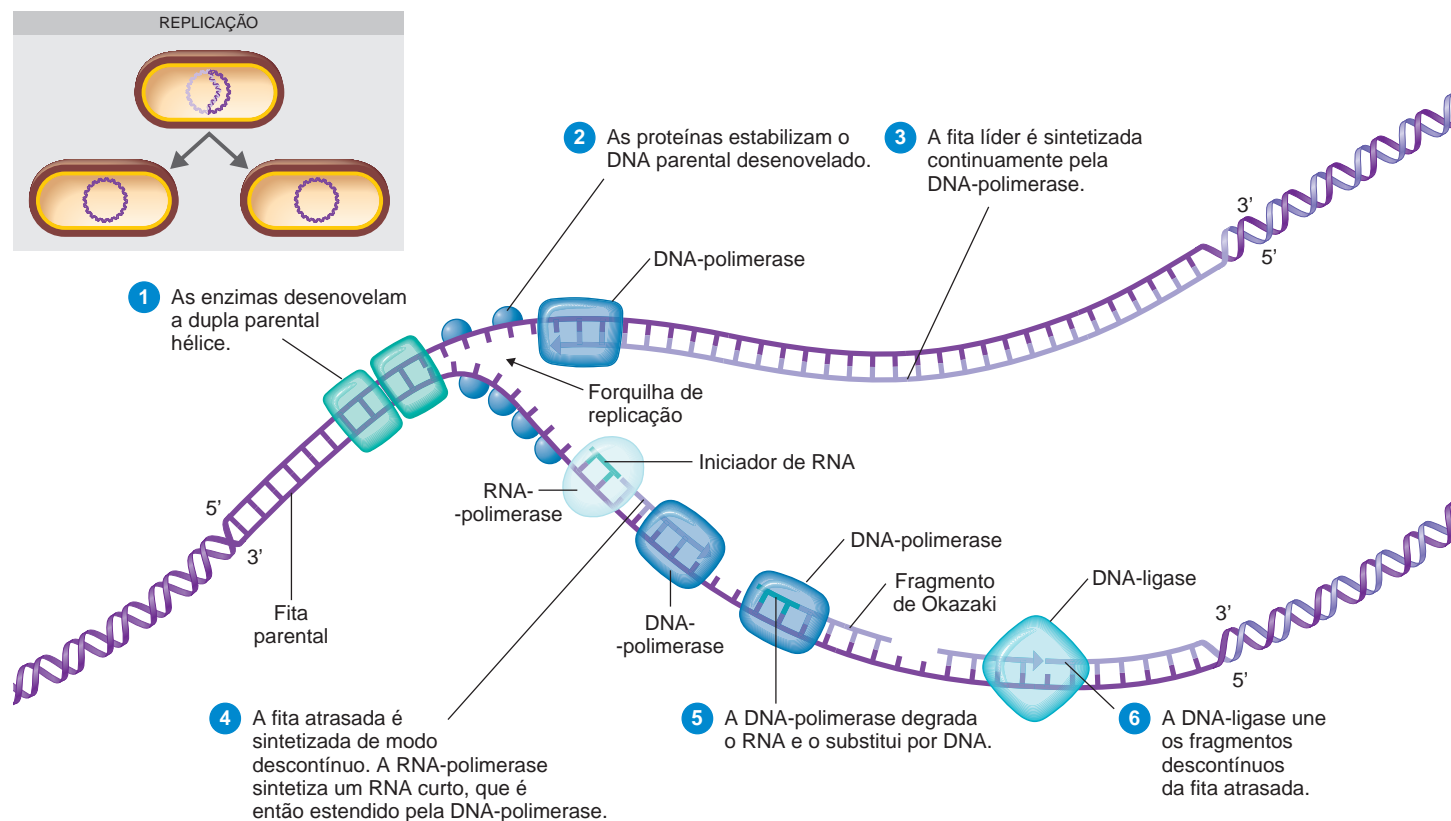



Figura 8.5 Um resumo dos eventos na forquilha de replicação.

P Por que uma fita de DNA é sintetizada de modo descontínuo?

Transcrição

Transcrição é a síntese de uma fita complementar de RNA a partir de um molde de DNA. Discutiremos aqui a transcrição de células procarióticas; já a transcrição nos eucariotos é discutida na página 220. Como mencionado anteriormente, há três tipos de RNA nas células bacterianas: RNA mensageiro, RNA ribossômico e RNA de transferência. O RNA ribossômico forma uma parte integral dos ribossomos, a maquinaria celular para a síntese proteica. O RNA de transferência também está envolvido na síntese proteica, como veremos posteriormente. O **RNA mensageiro** (**mRNA**) transporta a informação codificada para produzir proteínas específicas do DNA aos ribossomos, onde as proteínas são sintetizadas.

Durante a transcrição, uma fita de mRNA é sintetizada utilizando uma porção do DNA da célula como molde. Em outras palavras, a informação genética estocada na sequência de bases nitrogenadas do DNA é reescrita, de modo que a mesma informação aparece na sequência de mRNA. Como na replicação do DNA, um G no molde de DNA determina um C no mRNA que está sendo feito; um C no molde de DNA determina um G no mRNA; e um T no molde de DNA determina um A no mRNA. Entretanto, um A no molde de DNA determina uma uracila (U) no mRNA, porque o RNA contém U no lugar de T. (U tem uma estrutura levemente diferente de T, mas pareia da mesma maneira.) Se, por exemplo, o molde de DNA possui a sequência de bases 3'-ATGCAT, o mRNA recém-sintetizado terá a sequência complementar de bases 5'-UACGUA.

O processo de transcrição requer uma enzima denominada *RNA-polimerase* e um suprimento de nucleotídeos RNA (**Figura 8.7**). A transcrição começa quando a RNA-polimerase liga-se ao DNA em um local denominado **promotor**. Somente uma das duas fitas de DNA serve como molde para a síntese de RNA para um dado gene. Como o DNA, o RNA é sintetizado na direção 5' → 3'. A síntese de RNA continua até que a RNA-polimerase atinja um local no DNA denominado **região de terminação**.

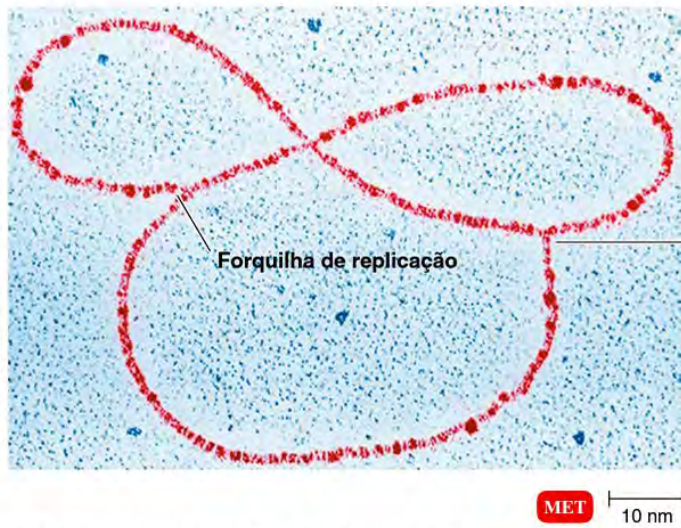
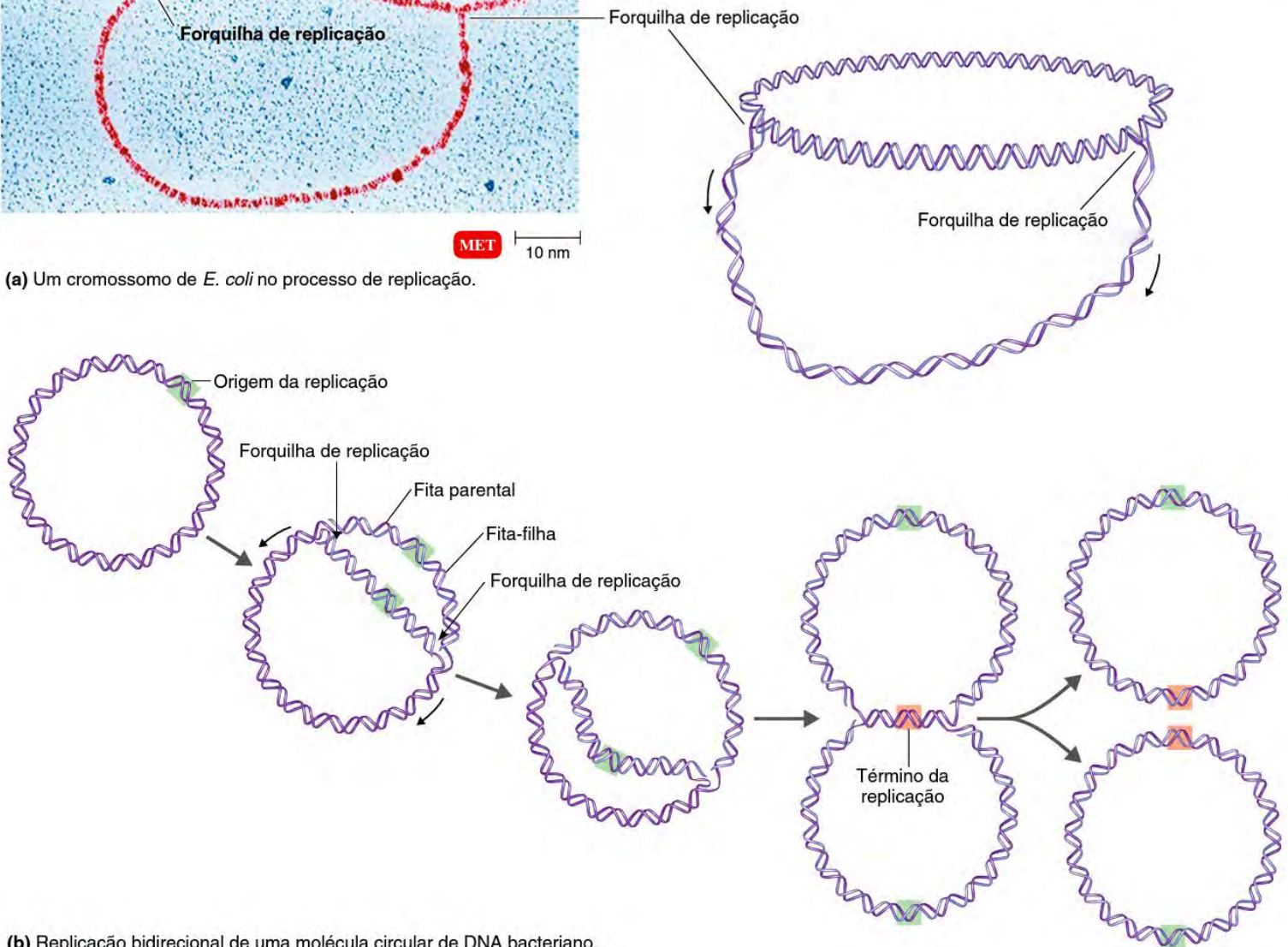
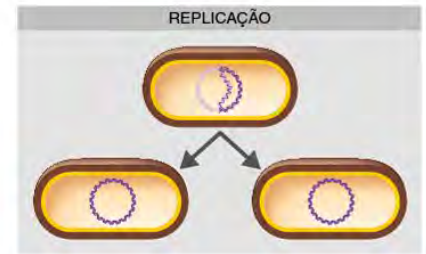
O processo de transcrição permite que a célula produza cópias de curta duração dos genes, que podem ser usadas como fonte direta de informação para a síntese proteica. O mRNA atua como um intermediário entre a forma de armazenamento permanente, o DNA, e o processo que usa a informação, a tradução.

(a) Um cromossomo de *E. coli* no processo de replicação.

(b) Replicação bidirecional de uma molécula circular de DNA bacteriano.

Figura 8.6 Replicação de DNA bacteriano.

P Qual é a origem da replicação?

Tradução

Já vimos como a informação genética no DNA é transferida ao mRNA durante a transcrição. Agora, veremos como o mRNA serve de fonte de informação para a síntese de proteínas. A síntese proteica é denominada **tradução**, pois envolve a decodificação da "linguagem" dos ácidos nucleicos e a conversão da informação na "linguagem" das proteínas.

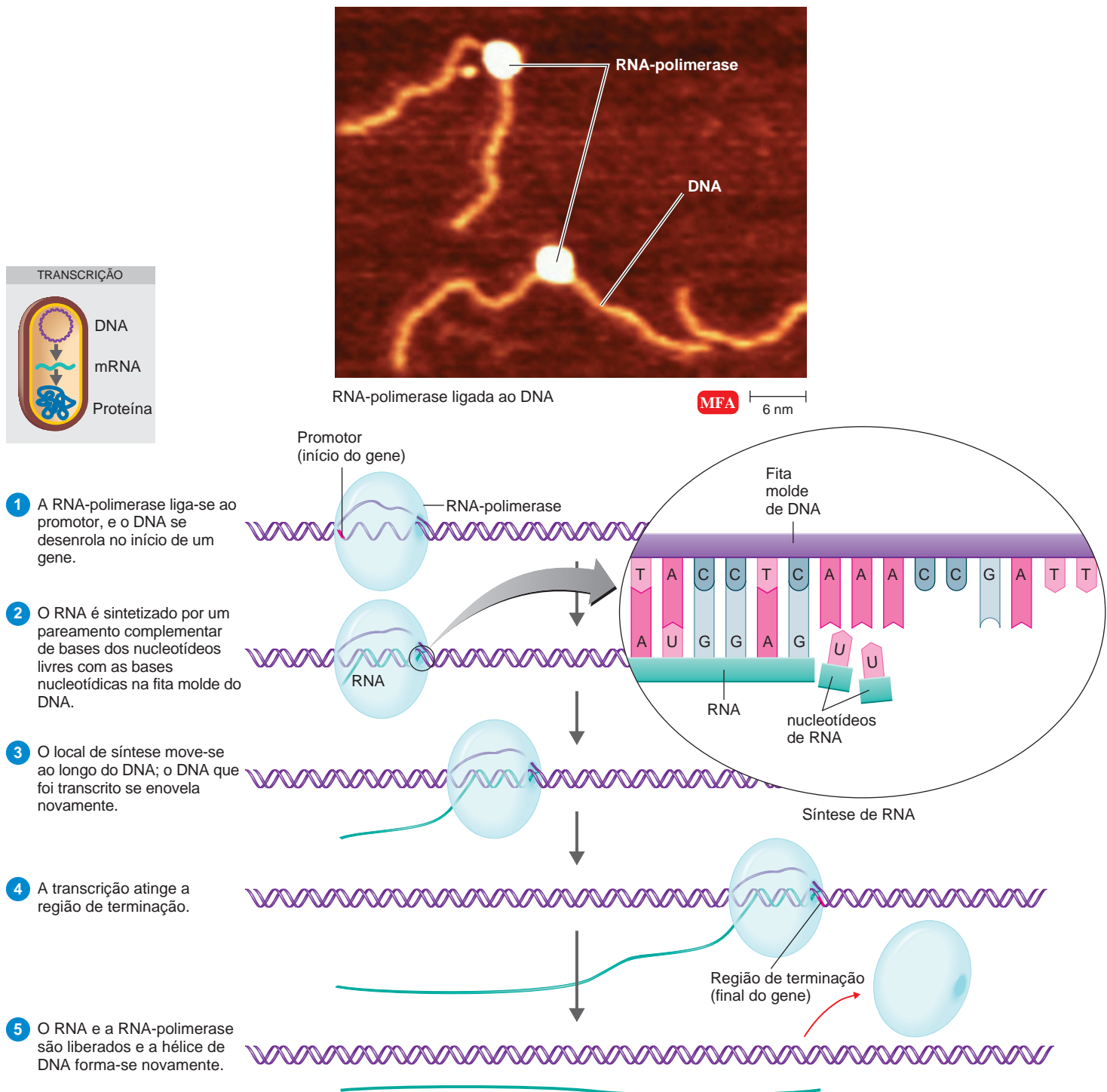



Figura 8.7 **O processo de transcrição.** O diagrama de orientação indica a relação da transcrição com o fluxo de informação genética completo dentro da célula.

P **Na transcrição, o que é copiado e como isto é feito?**

A linguagem do mRNA está em forma de **códons**, grupos de três nucleotídeos, como AUG, GGC ou AAA. A sequência de códons em uma molécula de mRNA determina a sequência de aminoácidos que estarão na proteína a ser sintetizada. Cada códon "codifica" um aminoácido específico. Este é o código genético (**Figura 8.8**).

Os códons são escritos em termos de sua sequência de bases no mRNA. Observe que existem 64 códons possíveis, mas somente 20 aminoácidos. Isso significa que a maioria dos aminoácidos é assinalada por vários códons alternativos, uma situação referida como **degeneração** do código. Por exemplo, a leucina tem seis códons e a alanina tem quatro. A degeneração permite que ocorra certa quantidade de alteração, ou mutação, no DNA sem afetar a proteína final produzida.

Dos 64 códons, 61 são códons de iniciação (*sense*) e 3 são códons de terminação (*nonsense*). Os **códons de iniciação** codificam os aminoácidos, e os **códons de terminação** (também chamados de *códons de parada*) não o fazem. Em vez disso, os códons de terminação – UAA, UAG e UGA – assinalam o fim da síntese da molécula de proteína. O códon de iniciação que inicia a síntese da molécula de proteína é AUG, que também é o códon da metionina. Nas bactérias, o códon de iniciação AUG codifica a formilmetionina em vez da metionina encontrada em outras partes da proteína. A metionina iniciadora com frequência é removida posteriormente; assim, nem todas as proteínas começam com metionina.

Os códons de mRNA são convertidos em proteína pelo processo de tradução. Os códons de um mRNA são "lidos" sequencialmente e, em resposta a cada códon, o aminoácido apropriado é montado em uma cadeia crescente. O local de tradução é o ribossomo, e as moléculas de **RNA de transferência** (**tRNA**) reconhecem os códons específicos e transportam os aminoácidos requeridos.

Cada molécula de tRNA possui um **anticódon**, uma sequência de três bases que é complementar ao códon. Dessa maneira, uma molécula de tRNA pode fazer pares de bases com seu códon associado. Cada tRNA também pode transportar em sua outra extremidade o aminoácido codificado pelo códon que o tRNA reconhece. As funções do ribossomo são dirigir ordenadamente a ligação do tRNA ao códon e montar os aminoácidos em uma cadeia, produzindo finalmente uma proteína.

A **Figura 8.9** mostra os detalhes da tradução. Os componentes necessários são montados: as duas subunidades ribossômicas, um tRNA com o anticódon UAC e a molécula de mRNA a ser traduzida, junto com vários fatores proteicos adicionais. Isso coloca o códon iniciador (AUG) na posição correta para permitir o início da tradução. Após o ribossomo se unir a dois aminoácidos por uma ligação peptídica, a primeira molécula de tRNA deixa o ribossomo, que então se move ao longo do mRNA até o códon seguinte.

À medida que os aminoácidos corretos são alinhados, ligações peptídicas são formadas entre eles, resultando em uma cadeia polipeptídica (veja a Figura 2.14, página 45). A tradução termina quando um dos três códons de terminação é alcançado no mRNA. O ribossomo, então, chega separado em suas duas subunidades, e o mRNA e a cadeia polipeptídica recém-sintetizada são liberados. O ribossomo, o mRNA e os tRNAs tornam-se, então, disponíveis para serem novamente utilizados.

O ribossomo se move ao longo do mRNA na direção 5' → 3'. Esse movimento do ribossomo permite a exposição do códon de iniciação. Os ribossomos adicionais podem então montar e começar a sintetizar proteína. Desse modo, normalmente há uma série de ribossomos unidos a um único mRNA, todos em vários estágios de síntese proteica. Nas células procarióticas, a tradução do mRNA em proteína pode começar antes mesmo de a transcrição estar completa (**Figura 8.10**). Como o mRNA é produzido no citoplasma, os códons de iniciação de um mRNA que estão sendo transcritos

Figura 8.8 O código genético. Os três nucleotídeos em um códon de mRNA são denominados, respectivamente, primeira posição, segunda posição e terceira posição do códon no mRNA. Cada conjunto de três nucleotídeos especifica um aminoácido, representado por uma abreviatura de três letras (veja a Tabela 2.4, página 44). O códon AUG, que especifica o aminoácido metionina, também é o início da síntese proteica. A palavra *Stop* (parada) identifica os códons de terminação que sinalizam o encerramento da síntese proteica.

P Por que o código genético é descrito como degenerado?

Figura 8.9 **O processo de tradução.** O objetivo geral da tradução é produzir proteínas utilizando mRNA como fonte de informação biológica. O ciclo complexo de eventos ilustrado aqui mostra o papel primário do tRNA e dos ribossomos na decodificação dessa informação. O ribossomo atua como o local onde a informação codificada pelo mRNA é decodificada, bem como o sítio onde os aminoácidos individuais são conectados em cadeias polipeptídicas. As moléculas de tRNA atuam como os verdadeiros "tradutores" – uma extremidade de cada tRNA reconhece um códon de mRNA específico, enquanto a outra transporta o aminoácido codificado para aquele códon.

P **Por que este processo é chamado de tradução?**

estão disponíveis aos ribossomos antes mesmo que a molécula integral de mRNA seja feita.

Nas células eucarióticas, a transcrição acontece no núcleo. O mRNA precisa ser completamente sintetizado e transportado através da membrana nuclear para o citoplasma antes da transcrição poder iniciar. Além disso, o RNA começa a ser processado antes de deixar o núcleo. Nas células eucarióticas, as regiões dos genes que codificam as proteínas são frequentemente interrompidas pelo DNA não codificante. Dessa forma, os genes eucarióticos são compostos de **éxons**, as regiões *expressas* do DNA, e de **íntrons**, as regiões *intermediárias* do DNA que não codificam proteína. No núcleo, a RNA-polimerase sintetiza uma molécula chamada de transcrito de RNA que contém cópias dos íntrons. Partículas denominadas **pequenas ribonucleoproteínas nucleares** (**snRNPs**, de *small nuclear ribonucleoproteins*) removem os íntrons e conectam os éxons. Em alguns organismos, os íntrons agem como ribozimas que catalisam sua própria remoção (**Figura 8.11**).

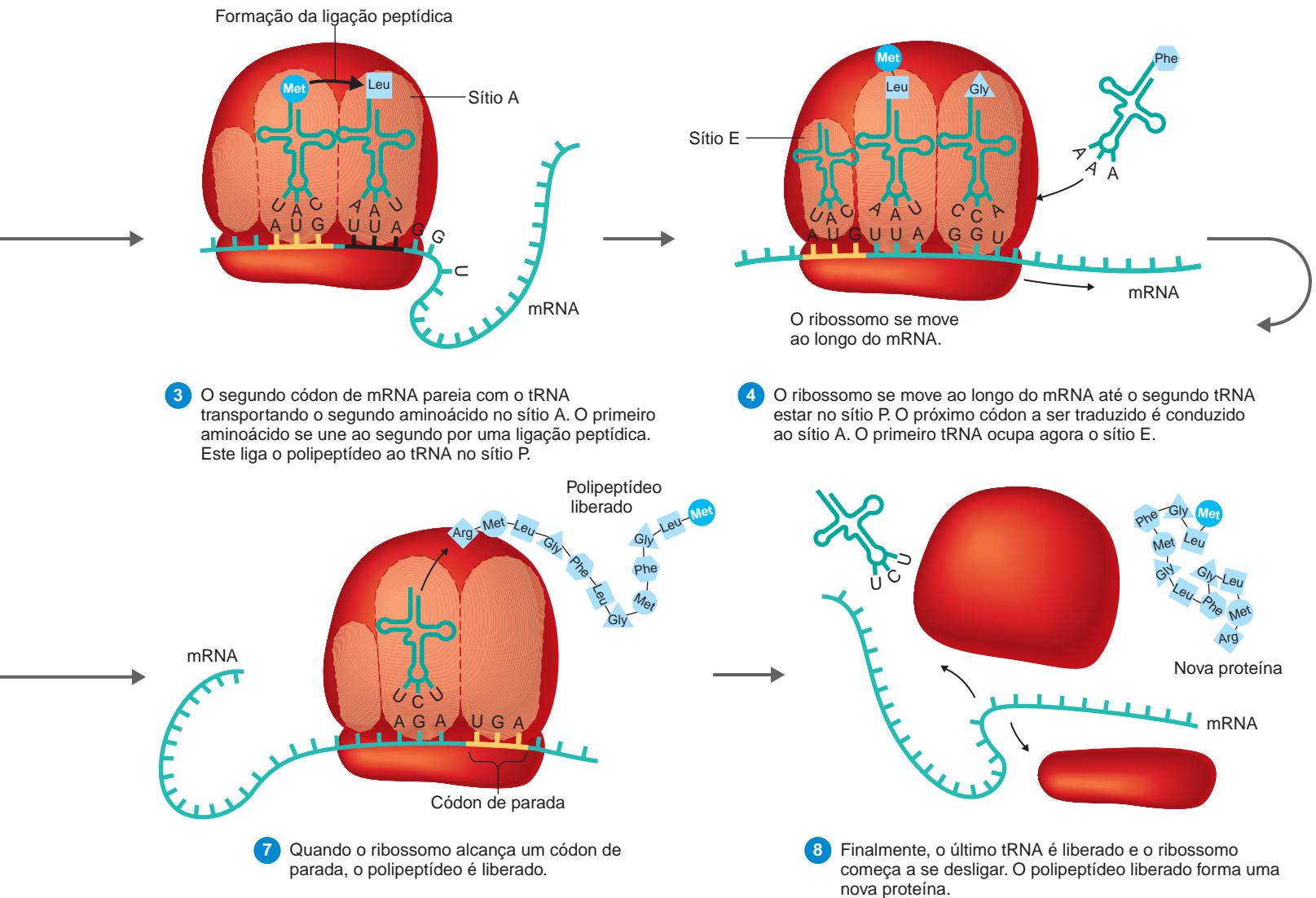



Figura 8.9 **O processo de tradução.** (*continuação*)

* * *

Em resumo, os genes são unidades de informação biológica codificada pela sequência de bases nucleotídicas no DNA. Um gene é expresso, ou transformado em um produto dentro da célula, pelos processos de transcrição e tradução. A informação genética transportada no DNA é transferida para uma molécula temporária de mRNA pela transcrição. A seguir, durante a tradução, o mRNA dirige a montagem dos aminoácidos em uma cadeia polipeptídica: um ribossomo se fixa ao mRNA, os tRNAs enviam os aminoácidos ao ribossomo, conforme orientado pela sequência de códons do mRNA, e o ribossomo monta os aminoácidos na cadeia que será a proteína recém-sintetizada.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual o papel do promotor, da região de terminação e do mRNA na transcrição? **8-4**

✓ Como a produção de mRNA em eucariotos difere do processo em procariotos? **8-5**

A regulação da expressão gênica bacteriana

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

8-6 Definir *operon.*

8-7 Explicar a regulação da expressão gênica em bactérias por indução, repressão e repressão catabólica.

As maquinarias genética e metabólica da célula são integradas e interdependentes. Lembre-se do Capítulo 5 que a célula bacteriana realiza um número enorme de reações metabólicas. A característica comum de todas as reações metabólicas é que elas são catalisadas por enzimas. Lembre-se também (página 120) que a inibição por retroalimentação impede uma célula de fazer reações químicas

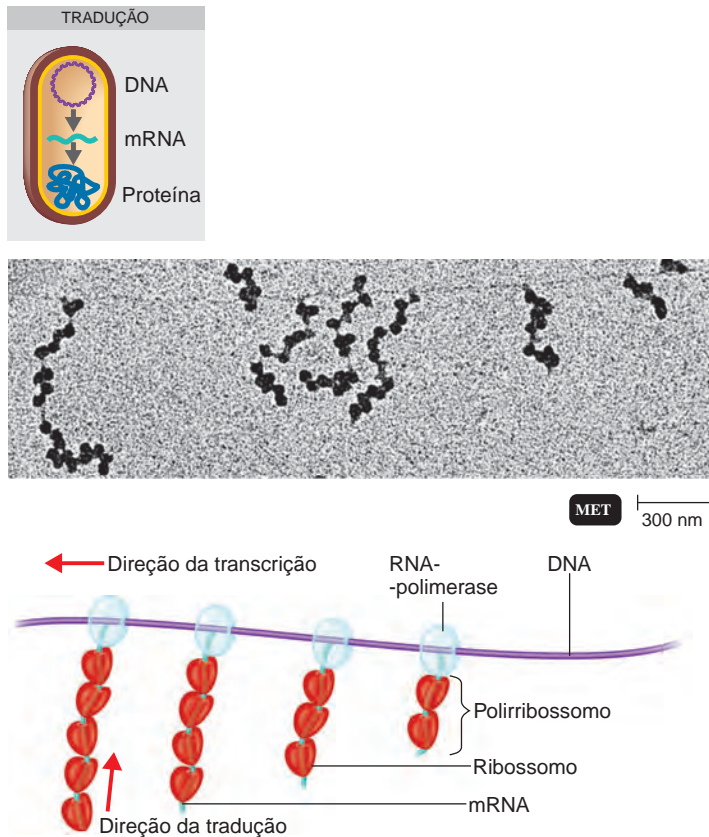



Figura 8.10 Transcrição e tradução simultânea em bactérias. A micrografia e o diagrama mostram esses processos em um único gene bacteriano. Muitas moléculas de mRNA estão sendo sintetizadas simultaneamente. As moléculas mais longas de mRNA foram as primeiras a serem transcritas no promotor. Observe os ribossomos aderidos ao mRNA recém-formado. Os polipeptídeos recém-sintetizados não são mostrados.

P Por que a tradução pode começar antes que a transcrição esteja completa em procariotos, mas não em eucariotos?

desnecessárias. Essa inibição interrompe as enzimas que já foram sintetizadas. Examinaremos agora os mecanismos para prevenir a síntese de enzimas que não são necessárias.

Vimos que os genes, por meio da transcrição e da tradução, dirigem a síntese das proteínas, muitos das quais servem como enzimas – as próprias enzimas usadas no metabolismo celular. Como a síntese de proteínas requer um gasto tremendo de energia, a regulação da síntese proteica é importante para a economia energética celular. A célula conserva energia produzindo somente aquelas proteínas necessárias em um momento específico. Examinaremos a seguir como as reações químicas são reguladas pelo controle da síntese das enzimas.

Muitos genes, talvez 60 a 80%, não são regulados, mas são, ao invés, *constitutivos*, significando que seus produtos são constantemente produzidos em uma velocidade fixa. Normalmente esses genes, que estão ligados efetivamente todo o tempo, codificam as enzimas de que a célula necessita em quantidades muito grandes para seus principais processos vitais; as enzimas da glicólise são exemplos. A produção de outras enzimas é regulada de modo que elas estejam presentes somente quando necessário. O *Trypanosoma*, o protozoário parasita que causa a doença do sono africana, possui centenas de genes que codificam suas glicoproteínas de superfície. Cada célula do protozoário liga somente um gene de

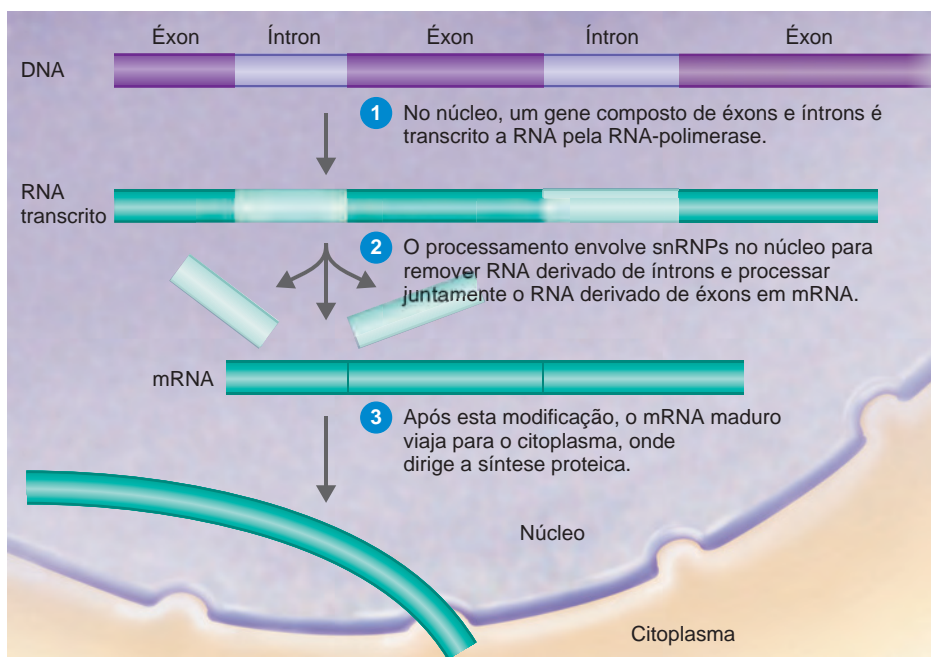



Figura 8.11 O processamento do RNA em células eucarióticas.

P Por que o RNA transcrito não pode ser usado para a tradução?

FOCO CLÍNICO

Rastreando o vírus do Oeste do Nilo (WNV, de *West Nile virus*)

Em 23 de agosto de 1999, um clínico especialista em doenças infecciosas de um hospital ao norte de Queens contactou o Departamento de Saúde da cidade de Nova York (NYCDOH) para relatar dois pacientes com encefalite. Na investigação, o NYCDOH identificou inicialmente um agrupamento de seis pacientes com encefalite, cinco dos quais apresentavam profunda fraqueza muscular e requeriam suporte respiratório. Nenhuma bactéria foi cultivada do sangue ou fluido cerebrospinal dos pacientes. Vírus transmitidos por mosquitos são causa comum de encefalite asséptica durante os meses de verão. Estes vírus são denominados arbovírus.

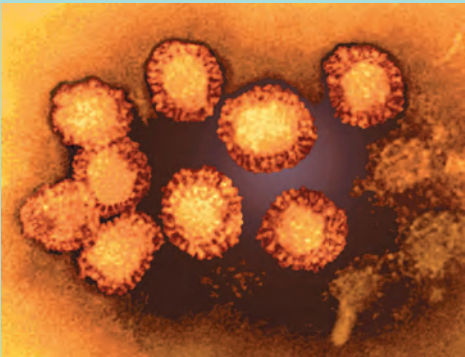
Arboviroses, doenças transmitidas por artrópodes, são viroses mantidas na natureza por transmissão biológica entre hospedeiros vertebrados suscetíveis por artrópodes que se alimentam de sangue, como os mosquitos.

Sequenciamentos do ácido nucleico desses isolados foram feitos no CDC em 23 de setembro. A comparação das sequências de ácido nucleico com outras anteriormente depositadas em bancos de dados indicou que os vírus eram estreitamente relacionados ao *vírus do Oeste do Nilo* (WNV, veja a foto), o qual nunca havia sido isolado no Hemisfério Ocidental.

Em 2007, o WNV foi encontrado em aves em todos os estados americanos, excetuando o Alaska e o Havaí. O reconhecimento do WNV no Hemisfério Ocidental no verão de 1999 marcou a primeira introdução em uma história recente de um flavivírus do Velho Mundo no Novo Mundo. Os casos nos Estados Unidos não são os únicos, entretanto, relatando atividades virais novas ou intensificadas em humanos e outros animais. Como em 2007, WNV causou encefalite em humanos, no México e no Canadá, e incursões de flavivírus em novas áreas são ocorrências que podem aumentar devido ao aumento do comércio.

O WNV foi inicialmente isolado em 1937, no distrito do Oeste do Nilo, em Uganda. No início dos anos de 1950, cientistas reconheceram surtos de encefalite causada pelo WNV no Egito e em Israel. Inicialmente considerado um arbovírus de menor importância, o WNV tem sido relatado como um importante problema de saúde pública e veterinária no Sul da Europa, na bacia Mediterrânea e na América do Norte.

Recentemente, pesquisadores estão avaliando o genoma do vírus em busca de dicas sobre sua disseminação ao redor do mundo. O genoma dos flavivírus consiste em RNA de fita simples senso positivo, contendo 11.000 a 12.000 nucleotídeos (RNA positivo pode atuar como mRNA e ser traduzido). O vírus está adquirindo muitas mutações, e os pesquisadores estão avaliando estas ocorrências para determinar sua disseminação.

1. Utilizando uma parte do genoma (mostrada a seguir) que codifica proteínas virais, você pode determinar o quanto estes vírus são similares? Você pode entender sua dispersão no mundo?
   Determine os aminoácidos codificados e os vírus com base na porcentagem de similaridade com a linhagem Uganda.

Vírus do Oeste do Nilo. MEV 50 nm

2. Com base nos aminoácidos, há dois grupos denominados clados.
   Qual grupo é o mais velho?
3. Os isolados norte-americano e australiano acumularam muitas mutações, então mostram ser mais recentes.
   Calcule a porcentagem de diferença entre os nucleotídeos para determinar como os vírus estão relacionados dentro do seu clado.
4. Embora grupos geneticamente correlacionados ou clados tenham sido observados, a atual disseminação do vírus permanece sem ser elucidada.

Fonte: Adaptado de dados do CDC.

Austrália	A	C	C	C	C	G	T	C	C	A	C	C	C	T	T	T	C	A	A	T	T
Egito	A	A	T	C	G	A	T	C	A	T	C	T	T	C	G	T	C	G	A	T	C
França	A	A	T	C	G	A	T	C	A	T	C	G	T	C	G	T	C	G	A	T	C
Israel	A	T	C	C	A	T	T	C	A	T	C	C	T	C	A	T	C	G	A	T	T
Itália	A	T	C	C	A	C	T	C	A	T	C	C	T	C	G	T	C	G	A	T	T
Kênia	A	T	C	C	A	C	T	C	A	T	C	C	T	C	G	T	C	G	A	T	T
México	A	A	C	C	C	T	T	C	C	T	C	C	C	C	T	T	C	G	A	T	T
Estados Unidos	A	A	C	C	C	C	T	C	C	T	C	C	C	C	T	T	C	G	A	T	T
Uganda	A	T	A	C	G	A	T	C	A	T	G	C	T	C	G	T	C	C	A	T	C

glicoproteína por vez. Como o sistema imune do hospedeiro mata os parasitas com um tipo de molécula de superfície, os parasitas que expressam glicoproteínas de superfície diferentes podem continuar a crescer.

Repressão e indução

Dois mecanismos de controle genético, conhecidos como repressão e indução, regulam a transcrição do mRNA e, consequentemente, a síntese de enzimas a partir dele. Esses mecanismos controlam a formação e as quantidades de enzimas na célula, e não a atividade das enzimas.

Repressão

O mecanismo regulador que inibe a expressão gênica e diminui a síntese das enzimas é denominado **repressão**. A repressão normalmente é uma resposta à abundância de um produto final de uma via metabólica; ela causa uma redução na velocidade da síntese das enzimas que levam à formação daquele produto. A repressão é mediada por proteínas reguladoras denominadas **repressoras**, que bloqueiam a capacidade da RNA-polimerase de iniciar a transcrição dos genes reprimidos. A condição-padrão de um gene passível de ser reprimida é *ligado*.

Indução

O processo que ativa a transcrição de um gene ou genes é a **indução**. Uma substância que atua induzindo a transcrição de um gene é denominada **indutor**, e as enzimas que são sintetizadas na presença de indutores são *enzimas indutíveis*. Os genes requeridos para o metabolismo da lactose na *E. coli* são um exemplo bem conhecido de sistema indutível. Um desses genes codifica a enzima β-galactosidase, que divide o substrato lactose em dois açúcares simples, glicose e galactose. (β refere-se ao tipo de ligação que une a glicose e a galactose.) Se a *E. coli* é colocada em um meio onde a lactose não está presente, o organismo quase não contém β-galactosidase; contudo, quando a lactose é adicionada ao meio, as células bacterianas produzem grande quantidade da enzima. Na célula, a lactose é convertida no composto relacionado alolactose, que é o indutor destes genes; assim, a presença de lactose induz a célula indiretamente a sintetizar mais enzima. A condição-padrão de um gene indutível é *desligado*.

O modelo operon de expressão gênica

Os detalhes do controle da expressão gênica por indução e repressão são descritos pelo modelo operon. François Jacob e Jacques Monod formularam esse modelo geral em 1961, para explicar a regulação da síntese proteica. Eles basearam seu modelo em estudos da indução das enzimas do catabolismo da lactose na *E. coli*. Além da β-galactosidase, essas enzimas incluem a lac permease, que está envolvida no transporte de lactose para dentro da célula, e a transacetilase, que metaboliza outros dissacarídeos que não a lactose.

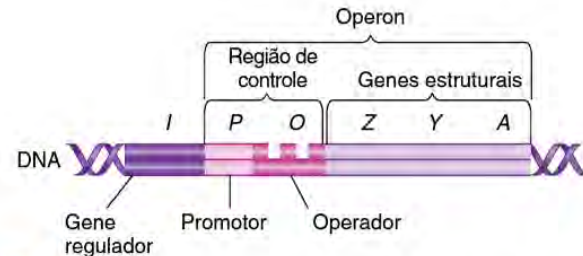
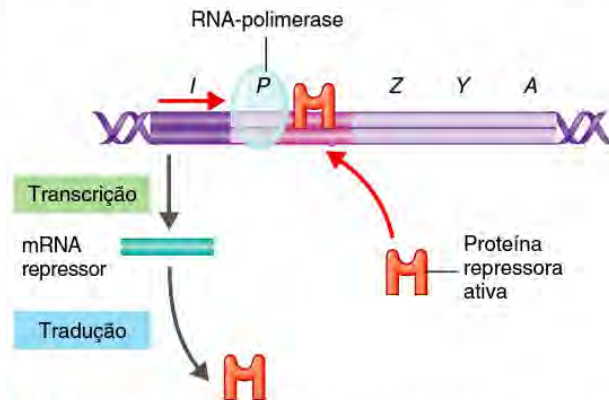
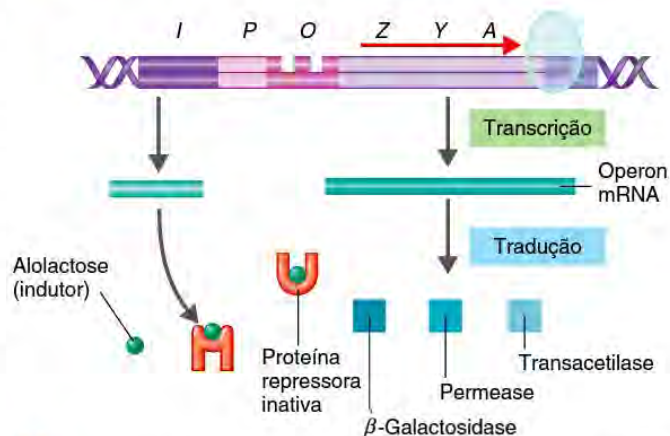
Os genes para as três enzimas envolvidas na captação e utilização da lactose estão em sequência no cromossomo bacteriano e são regulados em conjunto (**Figura 8.12**). Esses genes, que determinam

1 **Estrutura do operon.** O operon consiste em um sítio promotor (*P*) e um sítio operador (*O*) e genes estruturais que codificam as proteínas. O operon é regulado por produtos do gene regulador (*I*).

2 **Repressor ativo, operon desligado.** A proteína repressora liga-se ao operador, prevenindo a transcrição do operon.

3 **Repressor inativo, operon ligado.** Quando o indutor alolactose se liga à proteína repressora, o repressor inativado não pode mais bloquear a transcrição. Os genes estruturais são transcritos, resultando na produção das enzimas necessárias ao catabolismo da lactose.

Figura 8.12 **Um operon indutível.** As enzimas que degradam lactose são produzidas na presença de lactose. Em *E. coli*, os genes para as três enzimas estão no operon *lac*. A β-galactosidase é codificada pelo *lacZ*. O gene *lacY* codifica a lac permease, e *lacA* codifica a transacetilase, cuja função no metabolismo da lactose ainda não está clara.

P **O que promove a transcrição de uma enzima indutível?**

as estruturas de proteínas, são denominados *genes estruturais*, para diferenciá-los de uma região de controle adjacente no DNA. Quando a lactose é introduzida no meio de cultura, os genes estruturais *lac* são todos transcritos e traduzidos rápida e simultaneamente. Veremos agora como ocorre esta regulação.

Na região de controle do operon *lac* há dois segmentos de DNA relativamente curtos. Um, o *promotor*, é a região do DNA onde a RNA-polimerase inicia a transcrição. O outro é o **operador**, que é como um semáforo, que sinaliza para parar ou prosseguir com a transcrição dos genes estruturais. Um conjunto de sítios operadores e promotores e os genes estruturais que eles controlam definem um **operon**; portanto, a combinação dos três genes estruturais *lac* e as regiões de controle adjacentes é denominada operon *lac*.

Um gene regulador denominado *gene I* codifica uma proteína **repressora** que torna os operons indutíveis ou repressíveis ligados ou desligados. O operon *lac* é um **operon indutível** (veja a Figura 8.12). Na ausência da lactose, a proteína repressora liga-se fortemente ao sítio do operador, prevenindo a transcrição. Se a lactose está presente, o repressor liga-se ao metabólito da lactose em vez de se ligar ao sítio operador, e as enzimas que degradam a lactose são transcritas.

Em **operons repressíveis**, os genes estruturais são transcritos até que sejam desligados, ou *reprimidos* (**Figura 8.13**). Os genes para as enzimas envolvidas na síntese do triptofano são regulados deste modo. Os genes estruturais são transcritos e traduzidos, levando à síntese do triptofano. Quando há triptofano em excesso, ele age como um **co-repressor**, ligando-se à proteína repressora, que pode então se ligar ao operador, impedindo a continuação da síntese de triptofano.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O que é um operon? **8-6**

Regulação positiva

A regulação do operon da lactose também depende do nível de glicose no meio, que, por sua vez, controla o nível intracelular da pequena molécula **AMP cíclico (cAMP)**, uma substância derivada do ATP que serve como sinal de alarme celular. As enzimas que metabolizam a glicose são constitutivas, e as células crescem em sua velocidade máxima tendo a glicose como sua fonte de carbono, pois podem utilizá-la de modo mais eficiente (**Figura 8.14**). Quando a glicose não está mais disponível, o cAMP se acumula na célula. O cAMP se liga ao sítio alostérico da *proteína ativadora catabólica* (CAP, de *catabolic activator protein*). A CAP liga-se, então, ao promotor *lac* que inicia a transcrição, facilitando a ligação entre a RNA-polimerase e o promotor. Portanto, a transcrição do operon *lac* requer tanto a presença de lactose quanto a ausência de glicose (**Figura 8.15**).

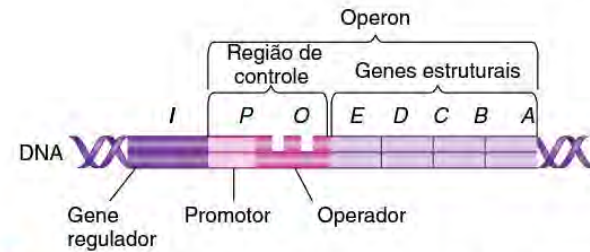
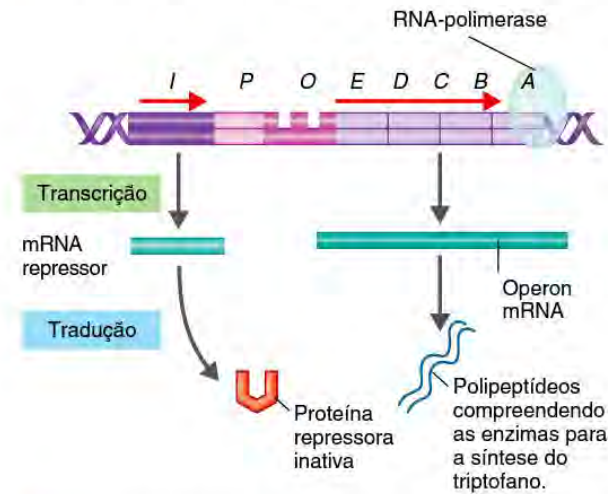
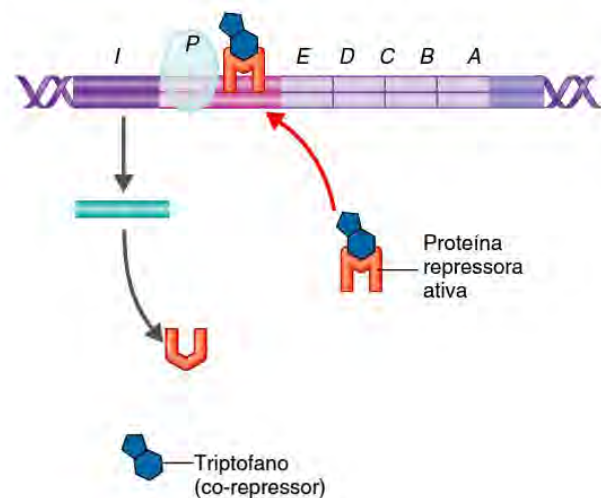
O cAMP é um exemplo de *alarmônio*, um sinal de alarme que a célula usa para responder ao estresse ambiental ou nutricional. (Nesse caso, o estresse é a falta de glicose.) O mesmo mecanismo envolvendo o cAMP permite que a célula cresça com outros açúcares. A inibição do metabolismo das fontes alternativas de carbono

1 Estrutura do operon. O operon consiste em um sítio promotor (*P*) e um sítio operador (*O*) e genes estruturais que codificam uma proteína. O operon é regulado pelo produto do gene regulador (*I*).

2 Repressor inativo, operon ligado. O repressor está inativo e a transcrição e a tradução prosseguem, levando à síntese do triptofano.

3 Repressor ativo, operon desligado. Quando o co-repressor triptofano liga-se à proteína repressora, o repressor ativado liga-se ao operador, prevenindo a transcrição do operon.

Figura 8.13 Um operon repressível. O triptofano, um aminoácido, é produzido por enzimas anabólicas codificadas por cinco genes estruturais. O acúmulo do triptofano reprime a transcrição desses genes, prevenindo a continuação da síntese do triptofano. O operon *trp* da *E. coli* é mostrado aqui.

P O que causa a transcrição de uma enzima repressível?

(a) Bactérias utilizando a glicose como única fonte de carbono crescem muito mais rápido que utilizando lactose.

(b) Bactérias crescendo em um meio contendo glicose e lactose consomem primeiramente a glicose e, então, após uma curta fase lag, consomem a lactose. Durante a fase lag, o cAMP aumenta, o operon *lac* é transcrito, mais lactose é transportada para a célula e β-galactosidase é sintetizada para degradar a lactose.

Figura 8.14 A taxa de crescimento da *E. coli* em glicose e lactose.

P Quando glicose e lactose estão presentes, por que as células utilizam primeiro a glicose?

(a) Lactose presente, glicose escassa (nível alto de cAMP). Se a glicose é escassa, o alto nível de cAMP ativa a CAP, e o operon *lac* produz grandes quantidades de mRNA para a digestão da lactose.

(b) Lactose presente, glicose presente (nível de cAMP baixo). Quando a glicose está presente, o cAMP está escasso, e a CAP não é capaz de estimular a transcrição.

Figura 8.15 Regulação positiva do operon *lac*.

P A transcrição do operon *lac* ocorre na presença de lactose e glicose? Na presença de lactose e na ausência de glicose? Na presença de glicose e na ausência de lactose?

pela glicose é denominada **repressão catabólica** (ou *efeito glicose*). Quando a glicose está disponível, o nível de cAMP na célula é baixo e, consequentemente, a CAP não está ligada.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Qual o papel do cAMP na repressão catabólica? **8-7**

Mutação: alteração no material genético

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **8-8** Classificar as mutações por tipo.
- **8-9** Definir *mutagênico*.
- **8-10** Descrever duas maneiras de reparo as mutações.
- **8-11** Descrever o efeito dos mutagênicos sobre a taxa de mutação.
- **8-12** Delinear os métodos de seleção direta e indireta de mutantes.
- **8-13** Identificar e resumir as propostas dos procedimentos para o teste de Ames.

Uma **mutação** é uma alteração na sequência de bases do DNA. Essa alteração na sequência de bases de um gene poderá, algumas vezes, causar uma alteração no produto codificado por aquele gene. Por exemplo, quando o gene para uma enzima sofre mutação, a enzima codificada pelo gene pode se tornar inativa ou menos ativa, pois sua sequência de aminoácidos foi alterada. Essa alteração no genótipo pode ser desvantajosa, ou mesmo letal, se a célula perder uma característica fenotípica de que ela necessita. Contudo, uma mutação pode ser benéfica se, por exemplo, a enzima alterada codificada pelo gene mutante possuir uma atividade nova ou intensificada que beneficie a célula.

Muitas mutações simples são silenciosas (neutras); a alteração na sequência de bases do DNA não causa alterações na atividade do produto codificado pelo gene. As mutações silenciosas comumente ocorrem quando um nucleotídeo é substituído por outro no DNA, em especial em uma localização correspondente à terceira posição do códon do mRNA. Devido à degeneração do código genético, o novo códon resultante ainda pode codificar o mesmo aminoácido. Ainda que um aminoácido seja alterado, a função da proteína pode não se

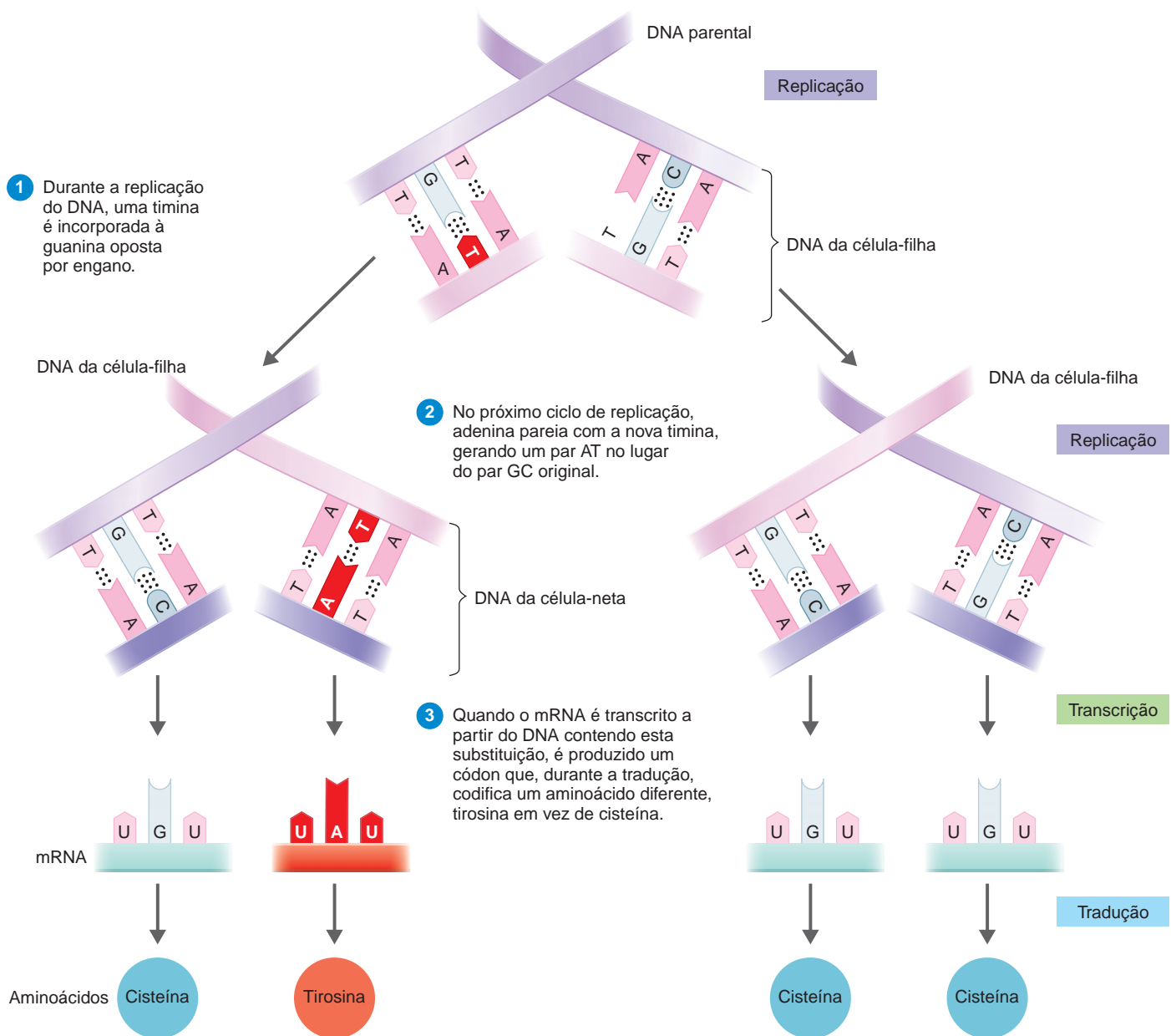



Figura 8.16 **Substituição de bases.** Essa mutação leva a uma proteína alterada em uma célula-neta.

P Uma substituição de base sempre resultará em um aminoácido diferente?

modificar se o aminoácido não estiver em uma porção vital da proteína, ou for muito semelhante quimicamente ao aminoácido original.

Tipos de mutações

O tipo mais comum de mutação envolvendo um único par de bases é a **substituição de bases** (ou *mutação de ponto*), em que uma única base em um ponto na sequência do DNA é substituída por uma base diferente. Quando o DNA se replica, o resultado é uma substituição de um par de bases (**Figura 8.16**). Por exemplo, AT pode ser substituído por GC, ou CG por GC. Se a troca de bases ocorrer dentro de um gene que codifica uma proteína, o mRNA transcrito a partir do gene transportará uma base incorreta naquela posição. Se a substituição de base resultar em uma substituição de aminoácidos na proteína sintetizada, essa alteração no DNA é conhecida com **mutação *missense*** (**Figuras 8.17a** e **8.17b**).

Os efeitos dessas mutações podem ser dramáticos. Por exemplo, a anemia falciforme é causada por uma única alteração no gene da globina, o componente proteico da hemoglobina. A hemoglo-

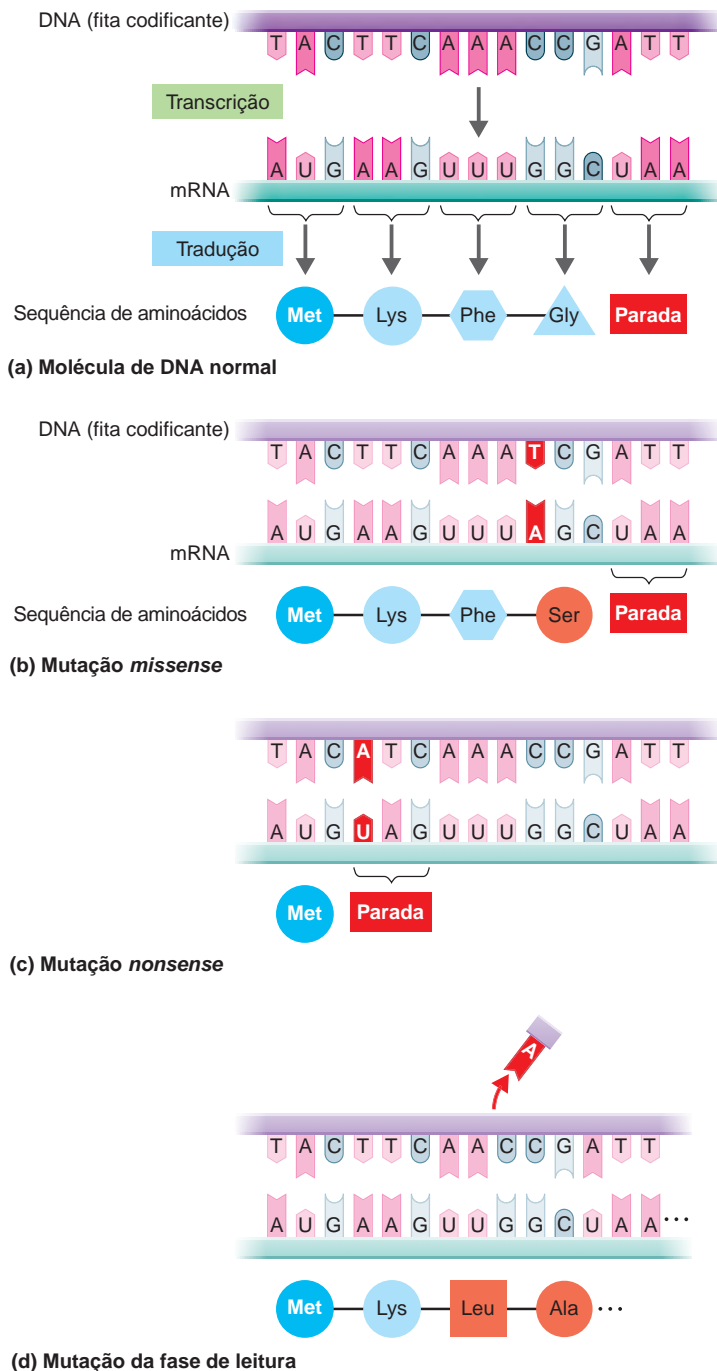



Figura 8.17 **Tipos de mutações e seus efeitos nas sequências de aminoácidos das proteínas.**

P **Em que bases as mutações *missense*, *nonsense* e de fase de leitura são distinguidas?**

bina é responsável principalmente pelo transporte de oxigênio dos pulmões aos tecidos. Uma única mutação *missense*, uma alteração de A para T em um local específico, resulta na alteração do ácido glutâmico para valina na proteína. O efeito dessa alteração é que a forma da molécula de hemoglobina se modifica em condições de oxigênio baixo, alterando a forma das hemácias, de modo que o movimento das células por meio dos pequenos capilares é extensivamente impedido.

Ao criar um códon de parada (sem sentido, ou *nonsense*) no meio de uma molécula de mRNA, algumas substituições de base impedem efetivamente a síntese de uma proteína funcional completa; somente um fragmento é sintetizado. Assim, uma substituição de base que resulta em um códon sem sentido é denominada **mutação *nonsense*** (**Figura 8.17c**).

Além das mutações de pares de bases, existem também alterações no DNA denominadas **mutações de fase de leitura** (*frameshift*), em que um ou alguns pares de nucleotídeos são removidos ou inseridos no DNA (**Figura 8.17d**). Essas mutações podem alterar a "fase de leitura da tradução", isto é, os agrupamentos de três nucleotídeos reconhecidos como códons pelo tRNA durante a tradução. Por exemplo, a deleção de um par de nucleotídeos no meio de um gene causa alterações em muitos aminoácidos a jusante do local da mutação original. As mutações de fase de leitura quase sempre resultam em uma longa sequência de aminoácidos alterados e na produção de uma proteína inativa do gene que sofreu mutação. Na maioria dos casos, um códon sem sentido será eventualmente encontrado, e assim, encerrará a tradução.

Ocasionalmente, ocorrem mutações em que números significativos de bases são adicionados (inseridos) em um gene. A doença de Huntington, por exemplo, é um distúrbio neurológico progressivo causado por bases extras inseridas em um gene específico. A razão para essas inserções ocorrerem nesse gene em particular ainda está sendo estudada.

As substituições de base e as mutações de fase de leitura podem ocorrer espontaneamente devido a erros ocasionais feitos durante a replicação do DNA. Essas **mutações espontâneas** aparentemente ocorrem na ausência da intervenção de agentes causadores de mutações. Os agentes no ambiente, como certos produtos químicos e a radiação, que produzem mutações direta ou indiretamente, são denominados **mutagênicos**. Quase todos os agentes que podem reagir química ou fisicamente com o DNA potencialmente causam mutações. Uma ampla variedade de substâncias químicas, muitas das quais são comuns na natureza ou nas residências, são mutagênicos conhecidos. Muitas formas de radiação, incluindo os raios X e a luz ultravioleta, também são mutagênicos, como será discutido em breve.

No mundo microbiano, certas mutações resultam em resistência a antibióticos (veja o quadro no Capítulo 26, página 751) ou patogenicidade alterada. Uma mutação em um gene que codifica a membrana externa pode aumentar a patogenicidade; por exemplo, *Salmonella typhimurium* com a membrana externa alterada pode sobreviver nos fagócitos. Uma mutação em um gene que codifique as cápsulas pode resultar na redução da patogenicidade, porque os fagócitos podem destruir as bactérias, como nos casos do *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como uma mutação pode ser benéfica? **8-8**

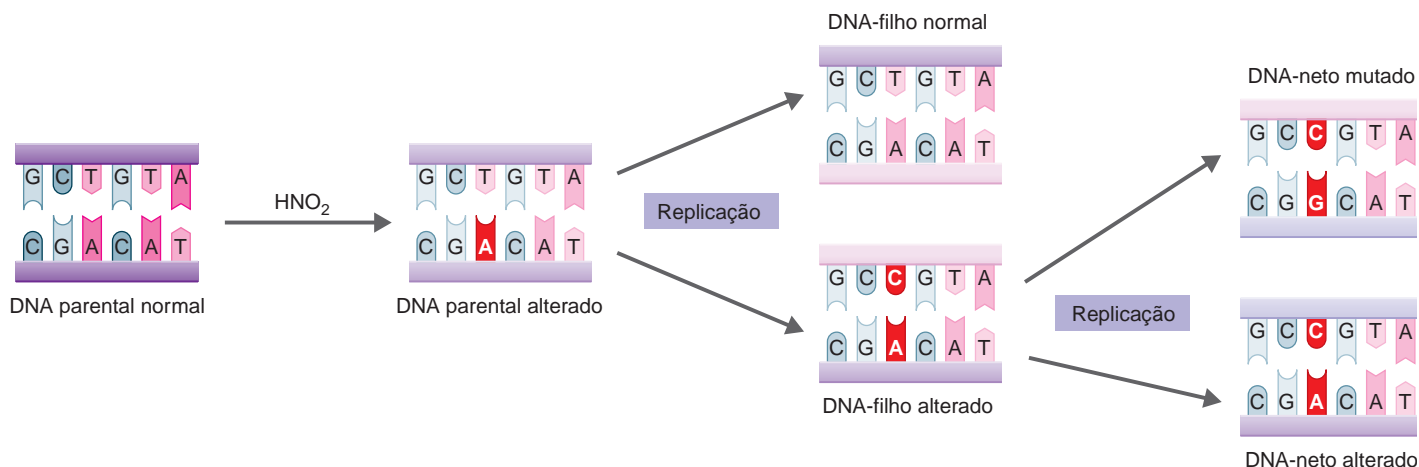



Figura 8.18 **Ácido nitroso (HNO_2) como mutagênico.** O ácido nitroso altera uma adenina, de modo que ela pareia com a citosina em vez da timina.

P O que é um mutagênico?

Mutagênicos

Mutagênicos químicos

Uma das muitas substâncias químicas sabidamente mutagênicas é o ácido nitroso. A **Figura 8.18** mostra como a exposição do DNA ao ácido nitroso pode converter a base adenina (A) em uma forma que não mais pareia com a timina (T) e sim com a citosina (C). Quando o DNA contendo essas adeninas modificadas se replica, a molécula-filha do DNA terá uma sequência de pares de bases diferente do DNA parental. No final, alguns pares de bases AT da célula-mãe serão alterados para pares de bases GC na célula-neta. O ácido nitroso realiza uma alteração de pares de bases específica no DNA. Assim como todos os mutagênicos, ele altera o DNA em localizações aleatórias.

Outro tipo de mutagênico químico é o **análogo de nucleosídeo**. Essas moléculas são estruturalmente similares às bases nitrogenadas normais, mas possuem propriedades de pareamento de bases levemente alteradas. Exemplos como a 2-aminopurina e a 5-bromouracila, são mostrados na **Figura 8.19**. Quando os análogos de nucleosídeo são dados às células em crescimento, eles são

Figura 8.19 **Análogos de nucleosídeos e as bases nitrogenadas que eles substituem.** Um nucleosídeo é fosforilado, e o nucleotídeo resultante é utilizado para sintetizar DNA.

P Por que estas drogas matam as células?

(a) A 2-aminopurina é incorporada no DNA no lugar da adenina, mas pode parear com a citosina, então o par AT se torna um par CG.

Nucleosídeos Timina

Nucleosídeos 5-bromouracila

(b) A 5-bromouracila é utilizada como uma droga contra o câncer porque é trocada por timina pelas enzimas celulares. Na próxima replicação do DNA, um par AT se torna um par GC.

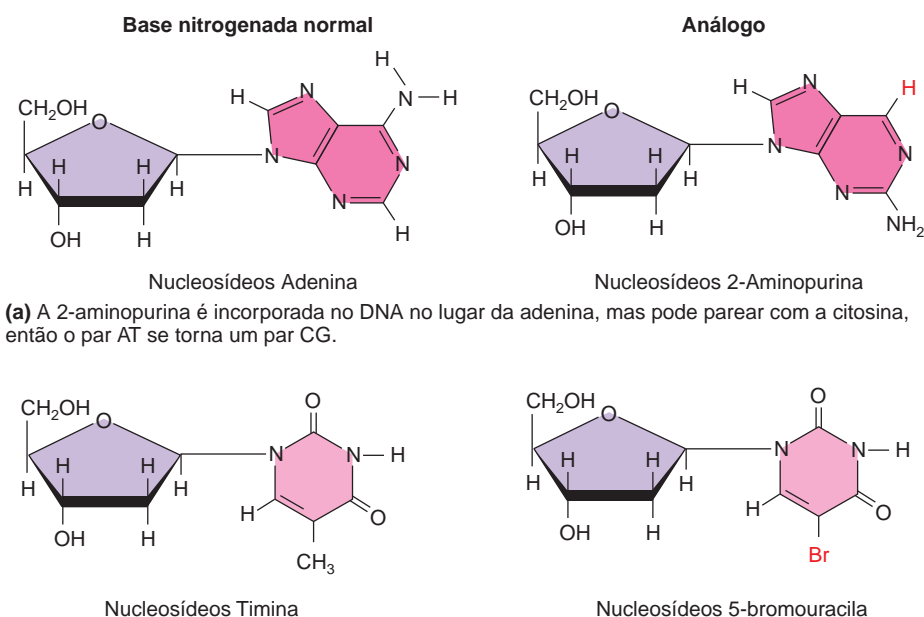
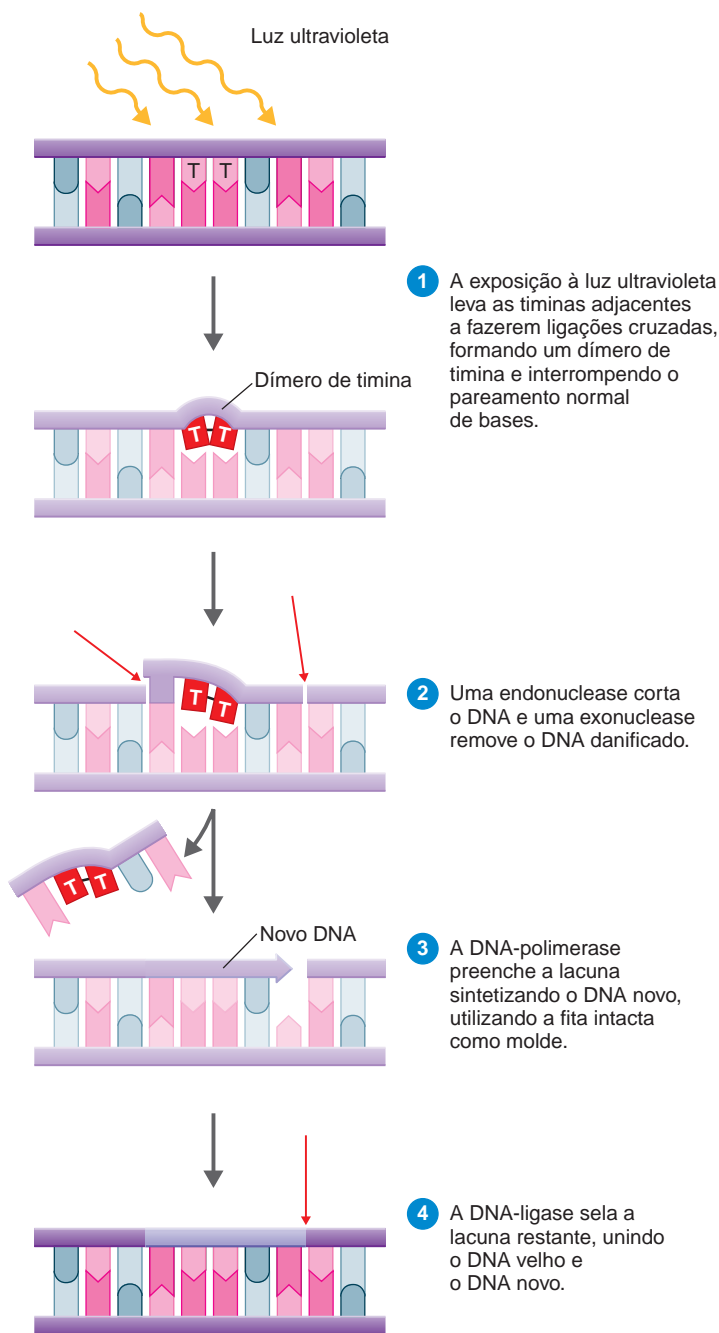



Figura 8.20 A criação e o reparo de um dímero de timina causado pela luz ultravioleta. Após a exposição à luz UV, as timinas adjacentes podem fazer ligações cruzadas, formando um dímero de timina. Na ausência de luz visível, o mecanismo de reparo por excisão de nucleotídeos é usado em uma célula para reparar o dano.

P Como as enzimas de reparo por excisão "sabem" qual é a fita incorreta?

incorporados aleatoriamente no DNA celular no lugar das bases normais. Então, durante a replicação do DNA, os análogos causam erros no pareamento de bases. As bases incorretamente pareadas serão copiadas durante a replicação subsequente do DNA, resultando em substituições de pares de bases nas células da progênie. Algumas drogas antivirais e antitumorais são análogos de nucleosídeo, incluindo a AZT (azidotimidina), uma das principais drogas usadas no tratamento da infecção por HIV.

Ainda outros mutagênicos químicos causam pequenas deleções ou inserções, que podem resultar em mutações de troca de fase de leitura. Por exemplo, em certas condições, o benzopireno, que está presente na fumaça e na fuligem, é um *mutagênico de troca de fase de leitura* efetivo. A aflatoxina – produzida pelo *Aspergillus flavus*, uma forma de bolor que cresce nos amendoins e nos grãos – é um mutagênico de troca de fase de leitura, assim como os corantes acridina usados experimentalmente contra as infecções por herpesvírus. Os mutagênicos de troca de fase de leitura geralmente possuem o tamanho e as propriedades químicas corretos para se inserir entre os pares de base da hélice dupla de DNA. Eles podem funcionar deslocando levemente as duas fitas do DNA, deixando um intervalo ou uma protuberância em uma das fitas. Quando as fitas de DNA deslocadas são copiadas durante a síntese de DNA, uma ou mais bases podem ser inseridas ou deletadas no novo DNA de dupla fita. De modo interessante, mutagênicos de fase de leitura frequentemente são carcinogênicos potentes.

Radiação

Os raios X e os raios gama são formas de radiação que são mutagênicos potentes, devido à sua capacidade de ionizar átomos e moléculas. Os raios penetrantes da radiação ionizante fazem os elétrons saltarem de suas camadas habituais (veja o Capítulo 2). Esses elétrons bombardeiam outras moléculas e causam mais dano, e muitos dos íons e radicais livres resultantes (fragmentos moleculares com elétrons não pareados) são altamente reativos. Alguns desses íons podem se combinar com bases no DNA, resultando em erros na replicação e no reparo do DNA, que produzem mutações. Um resultado ainda mais sério é a ruptura das ligações covalentes no esqueleto de açúcar-fosfato do DNA, que causa rupturas físicas nos cromossomos.

Outra forma de radiação mutagênica é a luz ultravioleta (UV), um componente não ionizante da luz solar comum. Contudo, o componente mais mutagênico da luz UV (comprimento de onda de 260 nm) é filtrado pela camada de ozônio da atmosfera. O efeito mais importante da luz UV direta sobre o DNA é a formação de ligações covalentes nocivas entre certas bases. As timinas adjacentes em uma fita de DNA podem fazer ligações cruzadas, formando dímeros de timina. Esses dímeros, a menos que reparados, podem causar graves danos ou morte celular, pois a célula não pode transcrever ou replicar corretamente este DNA.

As bactérias e outros organismos possuem enzimas que podem reparar o dano induzido por luz ultravioleta. As **fotoliases**, também conhecidas como *enzimas de reparo em presença da luz*, utilizam energia da luz visível para separar o dímero novamente nas duas timinas originais. O **reparo por excisão de nucleotídeos**, mostrado na Figura 8.20, não é restrito ao dano induzido por luz UV; ele também pode reparar as mutações de outras causas. As enzimas retiram as bases incorretas e preenchem o intervalo com

DNA recém-sintetizado, que é complementar à fita correta. Por muitos anos, biólogos questionaram como a base incorreta poderia ser distinguida da base correta se esta não era fisicamente distorcida como um dímero de timina. Em 1970, Hamilton Smith respondeu esta questão com a descoberta das **metilases**. Essas enzimas adicionam um grupo metil às bases imediatamente selecionadas após a produção da fita de DNA. Uma endonuclease de reparo, então, corta a fita não metilada.

A exposição à luz UV em seres humanos, como no bronzeamento excessivo, causa um grande número de dímeros de timina nas células da pele. Os dímeros não reparados podem resultar em câncer de pele. Os seres humanos com xerodermia pigmentar, uma condição hereditária que resulta em aumento na sensibilidade à luz UV, possuem um defeito no reparo por excisão de nucleotídeos; consequentemente, eles têm um risco maior de câncer de pele.

A frequência de mutação

A **taxa de mutação** é a probabilidade de um gene sofrer mutação quando a célula se divide. A taxa normalmente é apresentada como uma potência de 10 e, como as mutações são muito raras, o expoente é sempre um número negativo. Por exemplo, se existe uma chance em 10 mil de que um gene sofra mutação quando a célula se divide, a taxa de mutação é 1/10.000, que é expresso como 10^{-4}. Os erros espontâneos na replicação do DNA ocorrem em taxas muito baixas, talvez somente uma vez em 10^9 pares de bases replicados (uma taxa de mutação de 10^{-9}). Como o gene médio tem cerca de 10^3 pares de bases, a taxa espontânea de mutação é cerca de uma vez a cada 10^6 (um milhão) de genes replicados.

As mutações normalmente ocorrem de modo relativamente aleatório ao longo de um cromossomo. A ocorrência de mutações aleatórias em baixa frequência é um aspecto essencial da adaptação das espécies ao seu ambiente, pois a evolução requer que a diversidade genética seja gerada aleatoriamente e em taxas reduzidas. Por exemplo, em uma população bacteriana de tamanho significativo – digamos, maior que 10^7 células – algumas células novas mutantes sempre serão produzidas a cada geração. A maioria das mutações é nociva e provavelmente removida do *pool* genético quando a célula individual morre, ou é neutra. Contudo, algumas mutações podem ser benéficas. Por exemplo, uma mutação que confere resistência aos antibióticos é benéfica para uma população de bactérias que seja regularmente exposta a antibióticos. Uma vez que essa característica surja através da mutação, as células que transportam o gene mutado têm mais probabilidade de sobreviver e se reproduzir contanto que o ambiente permaneça o mesmo. Em pouco tempo, a maioria das células na população terá o gene; uma alteração evolutiva terá ocorrido, embora em pequena escala.

Um mutagênico geralmente aumenta a taxa espontânea de mutação, que é cerca de uma vez a cada 10^6 genes replicados, por um fator de 10 a 1.000 vezes. Em outras palavras, na presença de um mutagênico, a taxa normal de 10^{-6} mutações por gene replicado torna-se uma taxa de 10^{-5} a 10^{-3} por gene replicado. Os mutagênicos são usados experimentalmente para aumentar a produção de células mutantes, para pesquisar as propriedades genéticas dos micro-organismos e para objetivos comerciais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como as mutações são causadas pelos agentes químicos e pela radiação? 8-9
- ✓ Como as mutações podem ser reparadas? 8-10
- ✓ Como as mutações afetam a taxa de mutação? 8-11

Identificando mutantes

Os mutantes podem ser detectados por seleção ou teste para um fenótipo alterado. Se nenhum mutagênico é usado, as células mutantes com mutações específicas sempre serão raras, comparado a outras células na população. O problema é detectar esse evento raro.

Os experimentos em geral são realizados com bactérias, pois elas se reproduzem rapidamente; assim, um grande número de organismos (mais de 10^9 por mililitro de caldo nutriente) pode facilmente ser usado. Além disso, como as bactérias em geral possuem somente uma cópia de cada gene por célula, os efeitos de um gene mutado não são mascarados pela presença de uma versão normal do gene, como em muitos organismos eucarióticos.

A **seleção positiva (direta)** envolve a detecção das células mutantes pela rejeição das células parentais não mutadas. Por exemplo, suponha que estivéssemos tentando descobrir bactérias mutantes resistentes à penicilina. Quando as células bacterianas são colocadas em um meio contendo penicilina, o mutante pode ser identificado diretamente. As poucas células na população que são resistentes (mutantes) crescerão e formarão colônias, enquanto as células parentais normais, sensíveis à penicilina, não poderão crescer.

Para identificar mutações em outros tipos de genes, a **seleção negativa (indireta)** pode ser usada. Esse processo seleciona uma célula que não pode realizar certa função, utilizando a técnica de **placas réplicas**. Por exemplo, suponha que desejássemos utilizar placas réplicas para identificar uma célula bacteriana que perdeu a capacidade de sintetizar o aminoácido histidina (Figura 8.21). Primeiro, cerca de 100 células bacterianas são inoculadas em uma placa de ágar. Essa placa, denominada placa mestre, contém um meio com histidina em que todas as células irão crescer. Após 18 a 24 horas de incubação, cada célula se reproduz para formar uma colônia. Então, um coxim de material estéril, como látex, papel filtro ou veludo, é pressionado sobre a placa mestre, e algumas das células de cada colônia aderem-se ao veludo. A seguir, o veludo é pressionado sobre duas (ou mais) placas estéreis. Uma placa contém um meio com histidina, e a outra contém um meio sem histidina em que as bactérias originais, não mutantes, podem crescer. Qualquer colônia que crescer no meio com histidina na placa mestre, mas que não puder sintetizar sua própria histidina, não será capaz de crescer no meio sem histidina. A colônia mutante pode então ser identificada na placa mestre. É claro que, como os mutantes são muito raros (mesmo aqueles induzidos por mutagênicos), muitas placas precisam ser selecionadas com essa técnica para isolar um mutante específico.

A placa réplica é um meio muito efetivo de isolar mutantes que necessitam de um ou mais fatores novos de crescimento. Qualquer micro-organismo mutante com uma necessidade nutricional

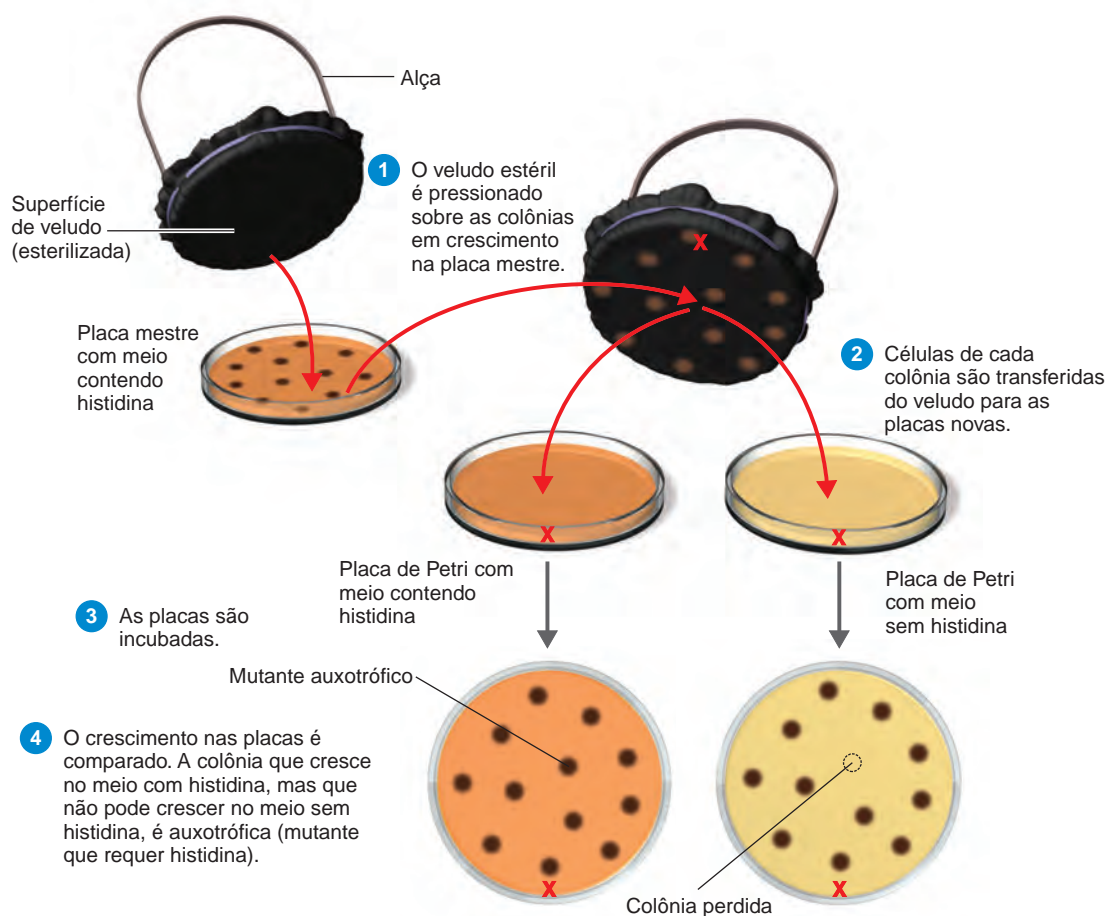



Figura 8.21 **Placas réplicas.** Nesse exemplo, o mutante auxotrófico não pode sintetizar histidina. As placas devem ser marcadas cuidadosamente (aqui, com um X) para manter a orientação, de modo que as posições das colônias sejam conhecidas em relação à placa mestre original.

P O que é um auxotrófico?

que esteja ausente na parental é conhecido como **auxotrófico**. Por exemplo, um organismo auxotrófico pode não ter a enzima necessária para sintetizar um aminoácido específico e, portanto, necessita daquele aminoácido como fator de crescimento em seu meio nutriente.

Identificando carcinógenos químicos

Muitos mutagênicos conhecidos foram reconhecidos como **carcinógenos**, substâncias que causam câncer em animais, incluindo os seres humanos. Em anos recentes, substâncias químicas no ambiente, no local de trabalho e na dieta foram implicadas como causa de câncer em seres humanos. As cobaias costumeiras dos testes para determinar os carcinógenos potenciais são animais, e os procedimentos de teste são demorados e caros. Atualmente, existem procedimentos mais rápidos e mais baratos para a triagem preliminar de carcinógenos potenciais. Um desses, denominado **teste de Ames**, utiliza bactérias como indicadores de carcinógenos.

O teste de Ames baseia-se na observação de que a exposição de bactérias mutantes a substâncias mutagênicas pode causar novas mutações que invertem o efeito (a alteração no fenótipo) da mutação original. Elas são denominadas *reversíveis*. Especificamente, o teste mede a reversão dos auxotróficos para histidina da *Salmonella* (células His^-, mutantes que perderam a capacidade de sintetizar histidina) para células que sintetizam histidina (His^+) após o tratamento com um mutagênico (**Figura 8.22**). As bactérias são incubadas tanto na presença quanto na ausência da substância a ser testada. Uma vez que as enzimas animais devem ativar muitos químicos em formas que são quimicamente reativas para que a atividade mutagênica ou carcinogênica apareça, a substância química a ser testada e as bactérias mutantes são incubadas junto com extrato de fígado de rato, uma fonte rica em enzimas de ativação. Se a substância a ser testada for mutagênica, causará a reversão das bactérias His^- para bactérias His^+ em uma taxa maior que a taxa de reversão espontânea. O número de revertentes observados fornece

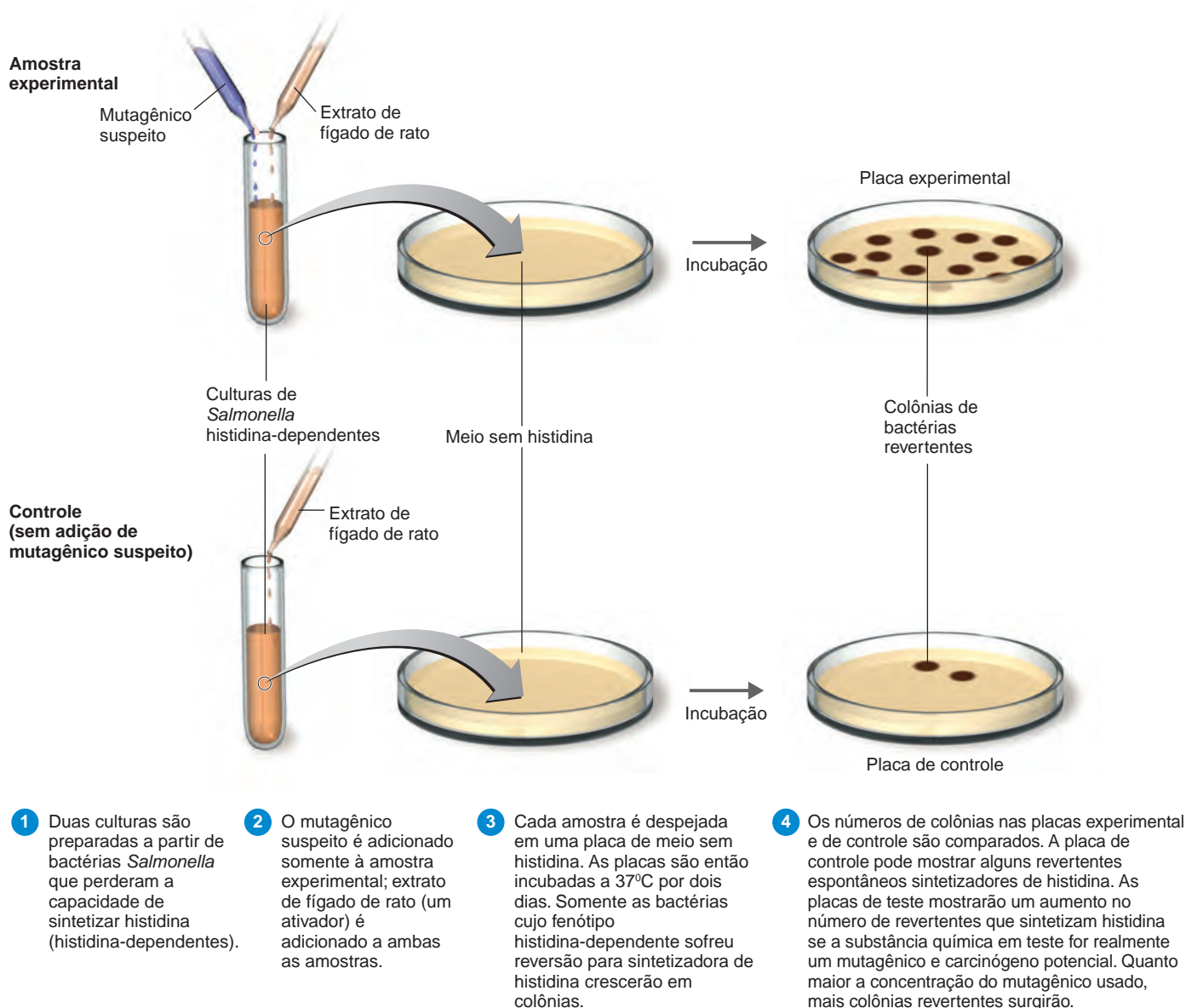



Figura 8.22 **O teste de mutação reversa de Ames.**

P **Todos os mutagênicos causam câncer?**

uma indicação do grau que uma substância é mutagênica, e assim, possivelmente carcinogênica.

O teste pode ser usado de muitas formas. Vários mutagênicos potenciais podem ser testados qualitativamente ao se colocar as substâncias químicas individuais em pequenos discos de papel em uma única placa inoculada com bactérias. Além disso, misturas como vinho, sangue, condensados de fumaça e extratos de alimentos também podem ser testadas para verificar se contêm substâncias mutagênicas. Cerca de 90% das substâncias que tiveram o seu papel mutagênico evidenciado pelos testes de Ames também mostraram ser carcinogênicas em animais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como você poderia isolar uma bactéria antibiótico-resistente? **8-12**

✓ Qual o princípio por trás do teste de Ames? **8-13**

Transferência genética e recombinação

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

8-14 Diferenciar transferência gênica horizontal e vertical.

8-15 Comparar os mecanismos de recombinação genética nas bactérias.

8-16 Descrever as funções de plasmídeos e transposons.

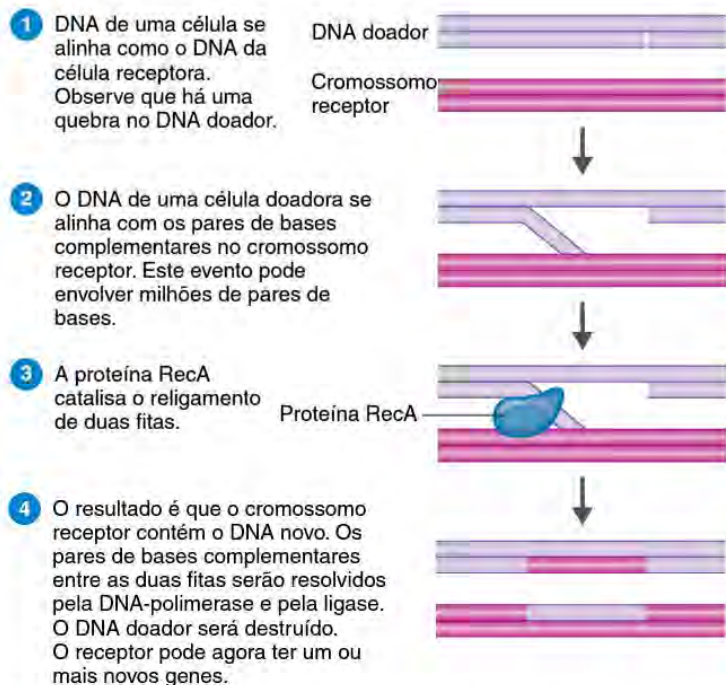



Figura 8.23 Recombinação genética por *crossing over*. DNA exógeno pode ser inserido no cromossomo por quebra e religamento. Este evento pode inserir um ou mais genes novos no cromossomo. Uma fotografia da proteína RecA é mostrada na Figura 3.11a.

P Que tipo de enzima quebra o DNA? Que enzima religa as peças do DNA?

A **recombinação genética** refere-se à troca de genes entre duas moléculas de DNA, para formar novas combinações de genes em um cromossomo. A Figura 8.23 mostra um tipo de mecanismo de recombinação genética. Se a célula capturar um DNA exógeno (denominado DNA doador na figura), parte dele poderá ser inserida no cromossomo celular, um processo denominado ***crossing over***, e alguns dos genes transportados por esses cromossomos serão trocados. O DNA recombinou, então o cromossomo carrega agora uma parte do DNA doador.

Se A e B representam o DNA de indivíduos diferentes, como eles são aproximados um do outro o suficiente para se recombinarem? Em eucariotos, a recombinação genética é um processo ordenado, que normalmente ocorre como parte do ciclo sexual do organismo. O *crossing over* geralmente ocorre durante a formação das células reprodutivas, de forma que elas contêm DNA recombinante. Em bactérias, a recombinação genética pode acontecer de diversas formas, discutidas nas próximas seções.

Assim como a mutação, a recombinação genética contribui para a diversidade genética de uma população, que é a fonte da variação evolutiva. Em organismos altamente evoluídos, como os micróbios atuais, a recombinação provavelmente seja mais benéfica que a mutação, pois a recombinação tem menos chance de destruir a função de um gene e pode unir combinações de genes que permitem ao organismo realizar uma função nova importante.

A principal proteína que constitui os flagelos da *Salmonella* também é uma das proteínas mais importantes que induzem nosso sistema imune a responder. Contudo, estas bactérias têm a capacidade de produzir duas proteínas flagelares diferentes. Como nosso sistema imune monta uma resposta contra as células que contêm uma forma da proteína flagelar, os organismos que produzem a segunda forma não são afetados. O tipo de proteína flagelar produzido é determinado por um evento de recombinação que aparentemente ocorre de modo um tanto aleatório no DNA cromossômico. Portanto, ao alterar a proteína flagelar produzida, a *Salmonella* pode evitar as defesas do hospedeiro.

A **transferência gênica vertical** ocorre quando os genes são passados de um organismo para seus descendentes. As plantas e os animais transmitem seus genes através dessa forma de transmissão. As bactérias podem passar seus genes não somente para seus descendentes, como para outros micróbios da mesma geração. Esse fenômeno é conhecido como **transferência gênica horizontal** (veja a Figura 8.2). A transferência gênica horizontal entre bactérias ocorre de muitas formas. Em todos os mecanismos, a transferência envolve uma **célula doadora**, que dá uma parte de seu DNA total para uma **célula receptora**. Uma vez transferida, parte do DNA do doador geralmente é incorporada ao DNA do receptor; o restante é degradado por enzimas celulares. A célula receptora que incorpora o DNA doador em seu próprio DNA é denominada *recombinante*. A transferência de material genético entre as bactérias não é um evento frequente, podendo ocorrer em apenas 1% ou menos de toda uma população. Examinaremos em detalhe os tipos específicos de transferência genética.

Transformação em bactérias

Durante o processo de **transformação**, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como DNA "nu" em solução. Esse processo foi demonstrado pela primeira vez há mais de 70 anos, embora não tenha sido compreendido na ocasião. Não somente a transformação mostrou que o material genético poderia ser transferido de uma célula bacteriana para outra, mas o estudo deste fenômeno acabou por levar à conclusão de que o DNA é o material genético. O experimento inicial sobre a transformação foi realizado em 1928 por Frederick Griffith, na Inglaterra, enquanto ele estava trabalhando com duas linhagens de *Streptococcus pneumoniae*. Uma delas, uma linhagem virulenta (patogênica), possui uma cápsula de polissacarídeo que previne a fagocitose. A bactéria cresce e causa pneumonia. A outra, uma linhagem avirulenta, não possui a cápsula e não causa doença.

Griffith estava interessado em determinar se injeções de bactérias mortas da amostra encapsulada poderiam ser utilizadas para vacinar camundongos contra pneumonia. Como ele esperava, as injeções de bactérias encapsuladas vivas mataram os camundongos (Figura 8.24a); as injeções de bactérias não encapsuladas vivas (Figura 8.24b) ou bactéria mortas (Figura 8.24c) não mataram os camundongos. Entretanto, quando a bactéria encapsulada morta foi misturada com a bactéria não encapsulada viva, e a mistura foi injetada nos camundongos, muitos deles morreram. No sangue dos camundongos mortos, Griffith encontrou bactérias encapsuladas vivas. Material hereditário (genes) das bactérias mortas tinha entrado nas células vivas, modificando-as geneticamente, de modo que sua progênie era encapsulada e virulenta (Figura 8.24d).

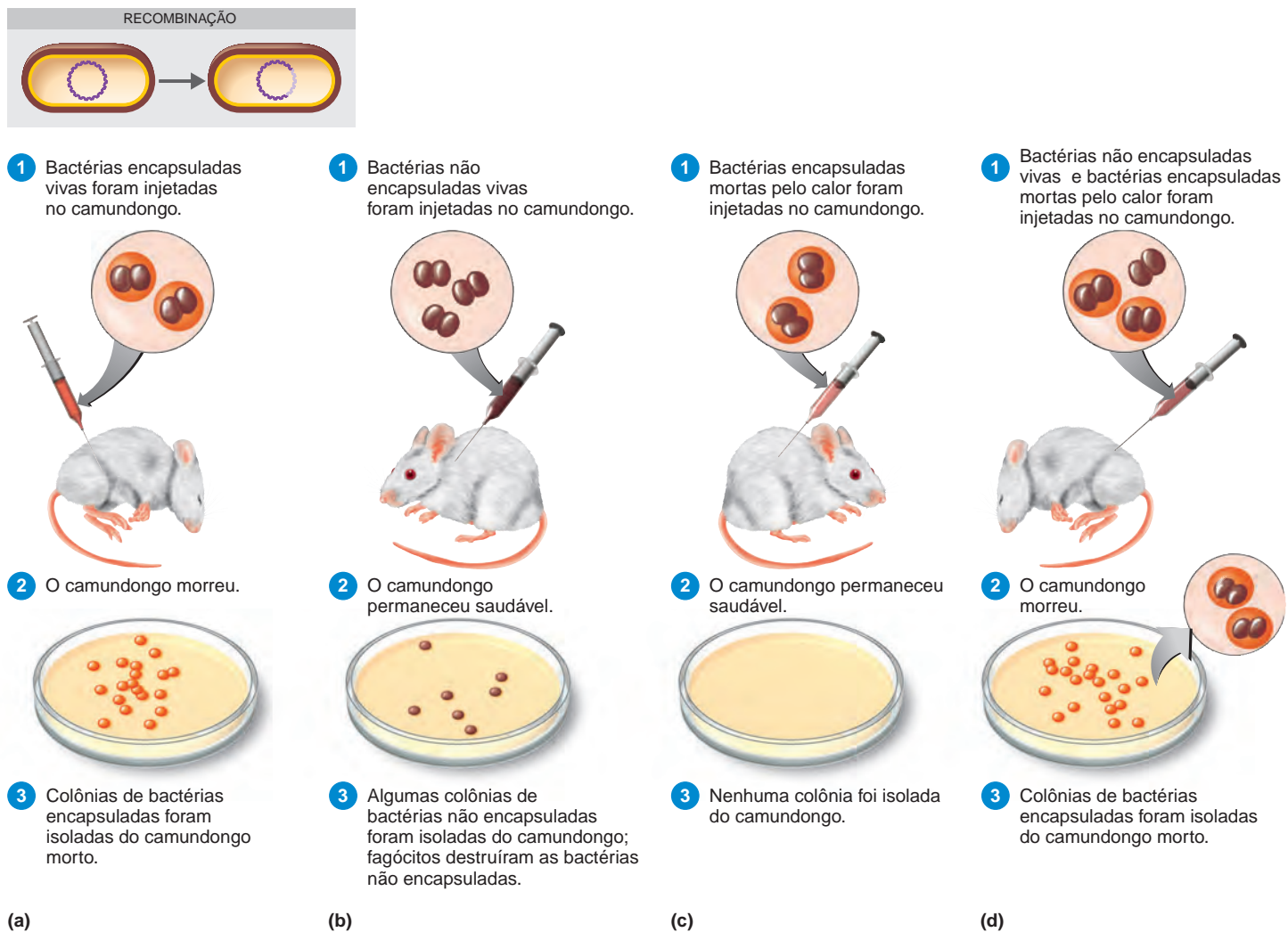



Figura 8.24 O experimento de Griffith, demonstrando a transformação genética. (a) Bactérias encapsuladas vivas causaram doença e morte quando injetadas em um camundongo. **(b)** Bactérias não encapsuladas vivas são prontamente destruídas pelas defesas fagocíticas do hospedeiro, e assim o camundongo permaneceu saudável após a injeção. **(c)** Após serem mortas pelo calor, as bactérias encapsuladas perderam a capacidade de causar doença. **(d)** Entretanto, a combinação de bactérias não encapsuladas vivas e bactérias encapsuladas mortas pelo calor (nenhuma delas, isoladamente, causa doença) produziu doença. De alguma maneira, as bactérias não encapsuladas vivas foram transformadas pelas bactérias encapsuladas mortas, de modo que elas adquiriram a habilidade de formar uma cápsula, e assim, causar doença. Os experimentos posteriores provaram que o fator de transformação era o DNA.

P Por que as bactérias encapsuladas mataram o camundongo, enquanto as bactérias não encapsuladas não o fizeram? O que causou a morte do camundongo em (d)?

Investigações posteriores, com base na pesquisa de Griffith, revelaram que a transformação bacteriana poderia ser realizada sem os camundongos. Um caldo foi inoculado com bactérias não encapsuladas vivas. Bactérias encapsuladas mortas foram então adicionadas ao caldo. Após a incubação, descobriu-se que a cultura continha bactérias vivas encapsuladas e virulentas. As bactérias não encapsuladas foram transformadas; elas adquiriram uma nova característica hereditária incorporando os genes das bactérias encapsuladas mortas.

O próximo passo foi extrair vários componentes químicos das células mortas, para determinar que componente causou a transformação. Esses experimentos cruciais foram realizados nos Estados Unidos por Oswald T. Avery e seus colegas Colin M. MacLeod e Maclyn McCarty. Após anos de pesquisa, eles anunciaram em 1944 que o componente responsável pela transformação do *S. pneumoniae* inofensivo em linhagens virulentas era o DNA. Seus resultados forneceram uma das indicações conclusivas de que o DNA é realmente o transportador da informação genética.

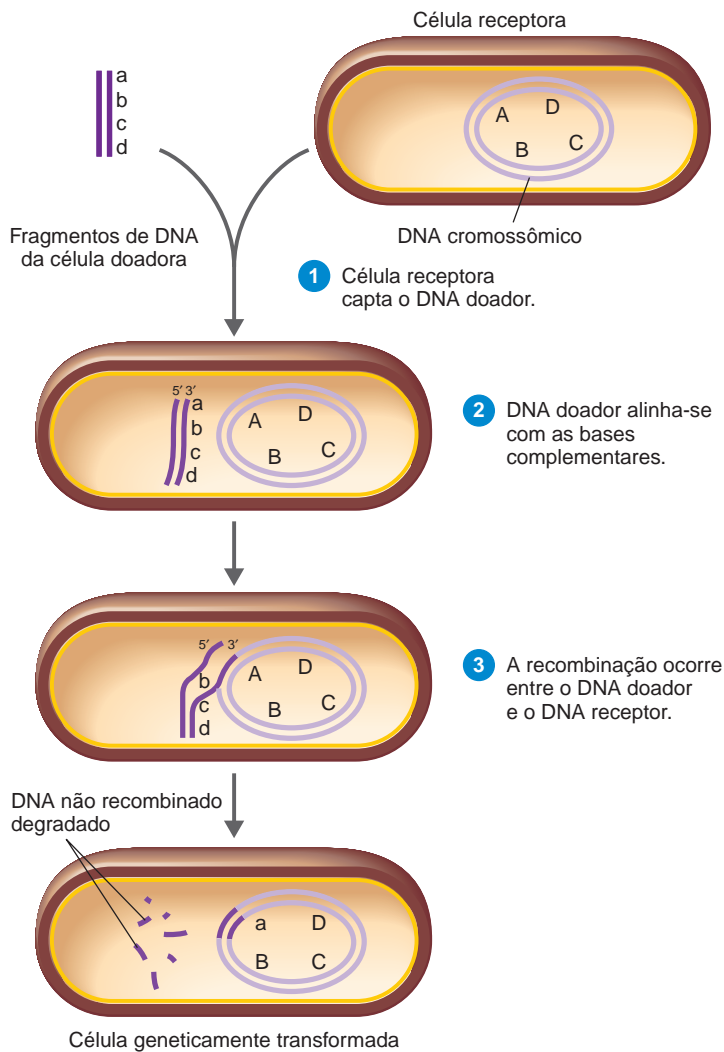



Figura 8.25 O mecanismo da transformação genética em bactérias. Alguma similaridade é necessária para o DNA doador e o DNA receptor se alinharem. Genes *a*, *b*, *c* e *d* podem ser mutações de *A*, *B*, *C* e *D*.

P Que tipo de enzima corta o DNA doador?

Desde a época do experimento de Griffith, informações consideráveis foram reunidas sobre a transformação. Na natureza, algumas bactérias, talvez após a morte e a lise celular, liberam seu DNA no ambiente. Então, outras bactérias podem encontrar o DNA e, dependendo da espécie e das condições de crescimento, captar fragmentos do DNA e os integrar em seus próprios cromossomos por recombinação. A proteína denominada RecA (veja a Figura 3.11a, página 65) liga-se ao DNA celular e, então, ao DNA doador, causando a troca de fitas. Uma célula receptora com essa nova combinação de genes é um tipo de híbrido, ou célula recombinante (**Figura 8.25**). Todos os descendentes desta célula recombinante serão idênticos a ela. A transformação ocorre naturalmente entre poucos gêneros de bactérias, incluindo *Bacillus*, *Hemophilus*, *Neisseria*, *Acinetobacter* e certas linhagens dos gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*.

A transformação funciona melhor quando as células doadora e receptora são intimamente relacionadas. Mesmo que somente uma pequena porção do DNA de uma célula seja transferida ao receptor, a molécula que deve passar através da parede e da membrana celular do receptor ainda é muito grande. Quando uma célula receptora está em um estado fisiológico em que pode captar o DNA doador, é descrita como competente. A **competência** resulta de alterações na parede celular, tornando-a permeável a moléculas grandes de DNA.

A bactéria *E. coli*, bem compreendida e amplamente utilizada, não é naturalmente competente para a transformação. Porém, um simples tratamento laboratorial permite que a *E. coli* capte facilmente o DNA. A descoberta desse tratamento permitiu aos pesquisadores utilizarem a *E. coli* para engenharia genética, discutida no Capítulo 9.

Conjugação em bactérias

Outro mecanismo pelo qual o material genético é transferido de uma bactéria para outra é conhecido como **conjugação**. A conjugação é mediada por um tipo de *plasmídeo*, um fragmento circular de DNA que se replica de modo independente do cromossomo da célula (discutido na página 238). Entretanto, os plasmídeos diferem dos cromossomos bacterianos, pois os genes que eles transportam normalmente não são essenciais para o crescimento da célula sob condições normais. Os plasmídeos responsáveis pela conjugação são transmissíveis entre as células durante a conjugação.

A conjugação difere da transformação em dois aspectos principais. Primeiro, a conjugação requer o contato direto célula a célula. Segundo, as células em conjugação geralmente devem ser de tipos opostos de acasalamento; as células doadoras devem transportar o plasmídeo, e as células receptoras normalmente não. Em bactérias gram-negativas, o plasmídeo transporta genes que codificam a síntese de *pili sexuais*, projeções da superfície da célula doadora que entram em contato com a receptora e auxiliam a unir as duas células em contato direto (**Figura 8.26a**). As células bacterianas gram-positivas produzem moléculas aderentes de superfície, que fazem as células entrar em contato direto umas com as outras. No processo de conjugação, o plasmídeo é replicado durante a transferência de uma cópia do filamento simples do DNA do plasmídeo para o receptor, onde o filamento complementar é sintetizado (**Figura 8.26b**).

Como a maioria dos trabalhos experimentais sobre conjugação foi realizada com *E. coli*, descreveremos o processo neste organismo. Na *E. coli*, o **fator F (fator de fertilidade)** foi o primeiro plasmídeo observado a ser transferido entre as células durante a conjugação. Doadores transportando fatores F (células F^+) transferem o plasmídeo aos receptores (células F^-), que, como resultado, tornam-se células F^+ (**Figura 8.27a**). Em algumas células transportando fatores F, o fator se integra ao cromossomo, convertendo a célula F^+ em uma **célula Hfr** (alta frequência de recombinação,

(a) Pilus sexual

(b) Ponte de conjugação

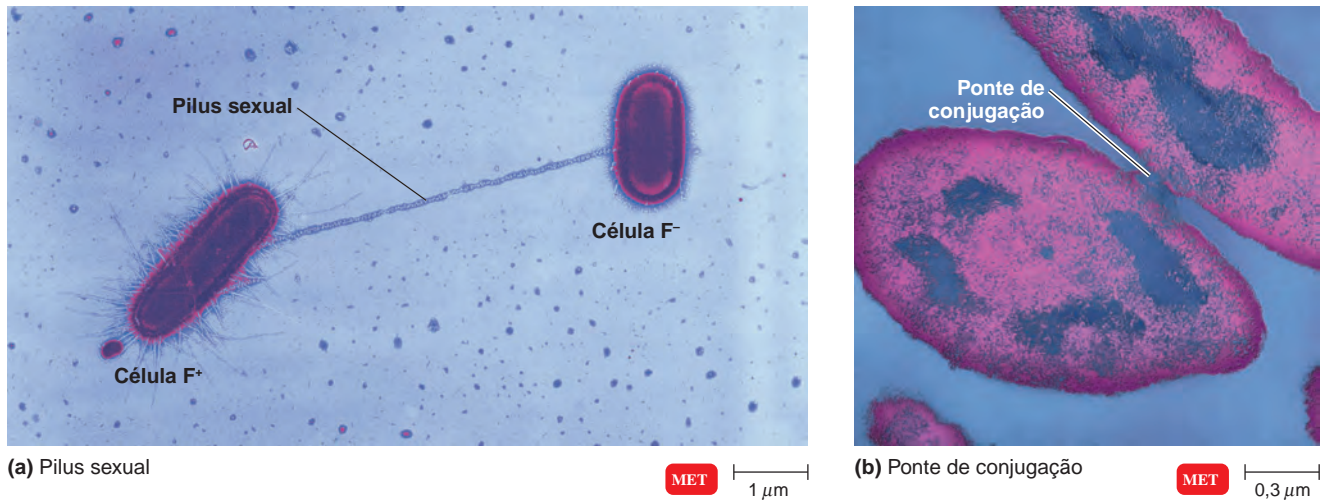



Figura 8.26 **Conjugação bacteriana.**

P O que é uma célula F$^+$?

de *High Frequency of recombination*) (**Figura 8.27b**). Quando a conjugação ocorre entre uma célula Hfr e uma célula F$^-$, o cromossomo da célula Hfr (com seu fator F integrado) se replica, e uma fita parental do cromossomo é transferida para a célula receptora (**Figura 8.27c**). A replicação do cromossomo Hfr se inicia no meio do fator F integrado, e um pequeno fragmento do fator F conduz os genes cromossômicos para a célula F$^-$. Normalmente, o cromossomo se rompe antes de ser transferido por completo. Uma vez dentro da célula receptora, o DNA doador pode se recombinar com o DNA receptor. (O DNA doador que não estiver integrado será degradado.) Desse modo, pela conjugação com uma célula Hfr, uma célula F$^-$ pode adquirir novas versões de genes cromossômicos (assim como na transformação). Contudo, ela permanece uma célula F$^-$, pois não recebeu um fator F completo durante a conjugação.

A conjugação é usada para mapear a localização de genes em um cromossomo bacteriano (veja a Figura 8.1b). Os genes para a síntese de treonina (*thr*) e leucina (*leu*) são os primeiros no sentido horário a partir do 0. Suas localizações foram determinadas por experimentos de conjugação. Imagine que uma conjugação é permitida por somente um minuto entre uma linhagem Hfr, que é his$^+$, pro$^+$, thr$^+$ e leu$^+$, e uma linhagem F$^-$, que é his$^-$, pro$^-$, thr$^-$ e leu$^-$. Se F$^-$ adquirir a habilidade de sintetizar a treonina, então o gene *thr* estará localizado no começo do cromossomo, entre 0 e 1 minuto. Se após 2 minutos a célula F$^-$ se tornar thr$^+$ e leu$^+$, a ordem desses dois genes no cromossomo deve ser *thr*, *leu*.

Transdução em bactérias

Um terceiro mecanismo de transferência genética entre bactérias é a **transdução**. Nesse processo, o DNA bacteriano é transferido de uma célula doadora para uma célula receptora dentro de um vírus que infecta bactérias, denominado **bacteriófago**, ou **fago**. (Os fagos serão discutidos no Capítulo 13.)

Para compreender como a transdução funciona, vamos considerar o ciclo de vida de um tipo de fago transdutor de *E. coli*; este fago realiza uma **transdução generalizada** (**Figura 8.28**).

Durante a reprodução dos fagos, o DNA e a proteína são sintetizados pela célula bacteriana hospedeira. O DNA do fago deve ser empacotado dentro do capsídeo proteico que o recobre. Entretanto, o DNA bacteriano, o DNA plasmidial ou até mesmo o DNA de outro vírus podem ser empacotados dentro do capsídeo proteico.

P&R Todos os genes contidos dentro de uma bactéria infectada por um fago transdutor generalizado têm probabilidades iguais de serem empacotados em um revestimento de fago e transferidos. Em outro tipo de transdução, denominado **transdução especializada**, somente certos genes bacterianos são transferidos. Em um tipo de transdução especializada, o fago codifica certas toxinas produzidas por seus hospedeiros bacterianos, como a toxina diftérica para o *Corynebacterium diphteriae*, a toxina eritrogênica para o *Streptococcus pyogenes* e a toxina Shiga para a *E. coli* O157:H7. A transdução especializada será discutida no Capítulo 13 (página 382). Além da mutação, da transformação e da conjugação, a transdução é outro mecanismo pelo qual as bactérias adquirem novos genótipos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✔ Diferencie transferência gênica horizontal e vertical. **8-14**
- ✔ Compare a conjugação entre os seguintes pares: F$^+$ × F$^-$, Hfr × F$^-$. **8-15**

Plasmídeos e transposons

Os plasmídeos e os transposons são elementos genéticos que fornecem mecanismos adicionais para a modificação genética. Eles ocorrem nos organismos procarióticos e eucarióticos, mas esta discussão focaliza seu papel na alteração genética em procariotos.

(a) Quando um fator F (um plasmídeo) é transferido de um doador (F^+) para um receptor (F^-), a célula F^- é convertida em uma célula F^+.

(b) Quando um fator F torna-se integrado no cromossomo de uma célula F^+, transforma-a em uma célula de alta frequência de recombinação (Hfr).

(c) Quando um doador Hfr passa uma porção do seu cromossomo para um receptor F^-, o resultado é uma célula recombinante F^-.

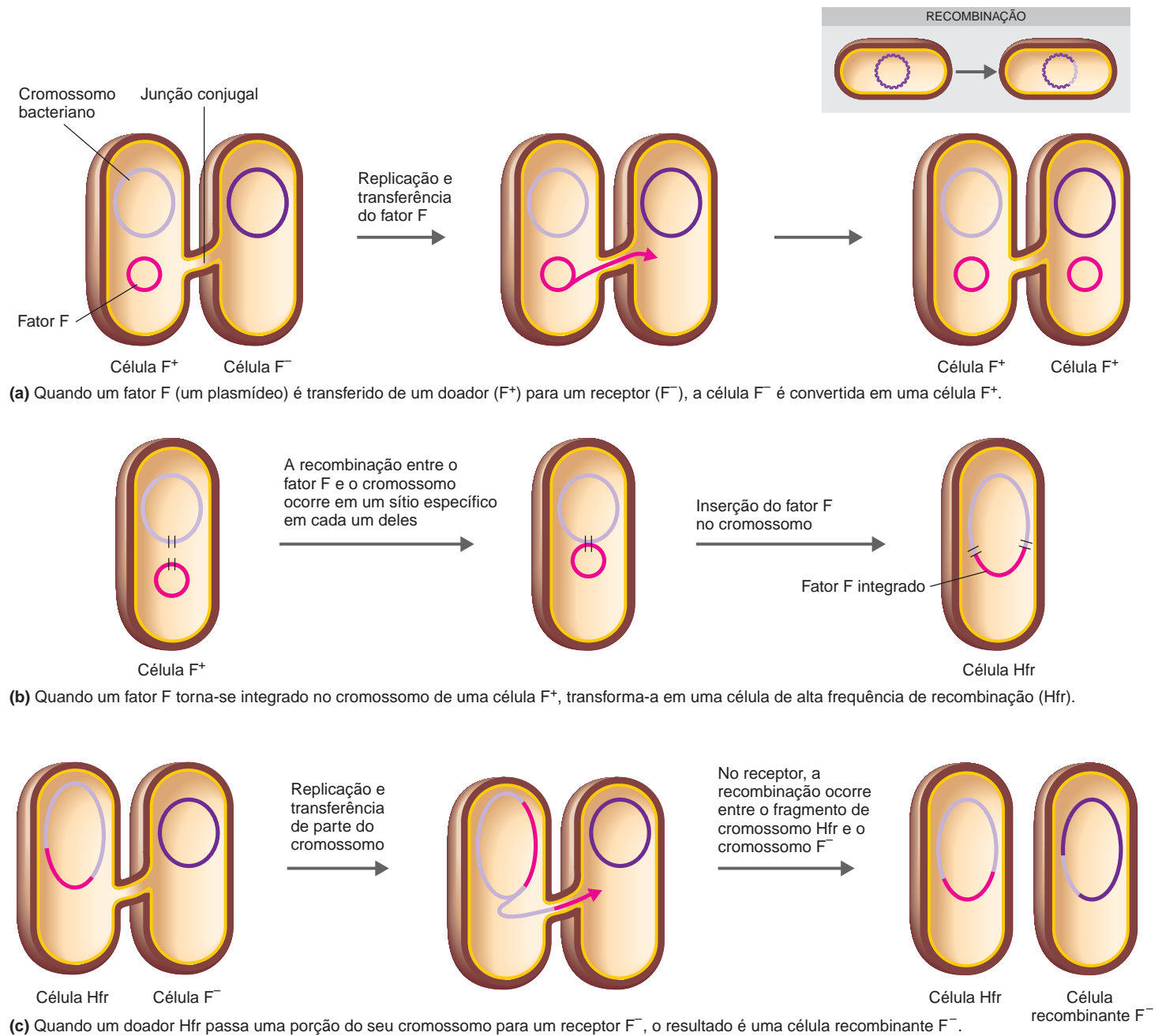



Figura 8.27 **Conjugação em *E. coli*.**

P **Como a conjugação difere da transformação?**

Plasmídeos

Lembre-se do Capítulo 4 (página 95) que os plasmídeos são fragmentos de DNA que são autorreplicantes, circulares, contendo genes, com cerca de 1 a 5% do tamanho do cromossomo bacteriano (**Figura 8.29a**). Eles são encontrados principalmente em bactérias, mas também em alguns micro-organismos eucarióticos, como *Saccharomyces cerevisiae*. O fator F é um **plasmídeo conjugativo** que transporta os genes para os pili sexuais e para a transferência do plasmídeo para outra célula. Embora os plasmídeos geralmente sejam dispensáveis, em certas condições os genes transportados pelos plasmídeos podem ser cruciais para a sobrevivência e o crescimento da célula. Por exemplo, os **plasmídeos de dissimilação** codificam enzimas que ativam o catabolismo de certos açúcares e hidrocarbonetos incomuns. Algumas

espécies de *Pseudomonas* podem utilizar substâncias exóticas como o tolueno, a cânfora e os hidrocarbonetos do petróleo como fontes principais de carbono e energia, pois possuem enzimas catabólicas codificadas por genes transportados em plasmídeos. Essas capacidades especializadas permitem a sobrevivência dos micro-organismos em ambientes muito diversos e desafiadores. Devido à sua capacidade para degradar e detoxificar uma variedade de compostos incomuns, muitos deles estão sendo investigados para um possível uso na limpeza do lixo ambiental (veja o quadro no Capítulo 2, página 33).

Outros plasmídeos codificam proteínas que aumentam a patogenicidade de uma bactéria. A linhagem de *E. coli* que causa a diarreia infantil e a diarreia do viajante transporta plasmídeos que codificam a produção de toxinas e a fixação bacteriana às células intestinais. Sem esses plasmídeos, a *E. coli* é um residente inofensivo do intestino grosso; com eles, é patogênica. Outras toxinas codificadas por plasmídeos incluem a toxina esfoliativa do *Staphylococcus aureus*, a neurotoxina do *Clostridium tetani* e as toxinas do *Bacillus anthracis*. Outros plasmídeos contêm genes para a síntese de **bacteriocinas**, proteínas tóxicas que matam outras bactérias. Esses plasmídeos foram encontrados em muitos gêneros bacterianos, sendo marcadores úteis para a identificação de certas bactérias em laboratórios clínicos.

Os **fatores R (fatores de resistência)** são plasmídeos que possuem importância médica significativa. Eles foram descobertos no Japão, no final da década de 50, após várias epidemias de disenteria. Em algumas dessas epidemias, o agente infeccioso era resistente ao antibiótico costumeiro. Após o isolamento, descobriu-se também que o patógeno era resistente a uma série de antibióticos diferentes. Além disso, outras bactérias normais dos pacientes (como a *E. coli*) também demonstraram ser resistentes. Os pesquisadores logo descobriram que estas bactérias adquiriram resistência por meio da disseminação de genes de um organismo para outro. Os plasmídeos que mediaram essa transferência são os fatores R.

Os fatores R transportam genes que conferem à célula hospedeira resistência a antibióticos, metais pesados ou toxinas celulares. Muitos fatores R contêm dois grupos de genes. Um grupo é denominado **fator de transferência de resistência (FTR)** e inclui genes para replicação do plasmídeo e conjugação. O outro grupo, o **determinante-r**, possui os genes de resistência; ele codifica a produção de enzimas que inativam certas drogas ou substâncias tóxicas (**Figura 8.29b**). Diferentes fatores R, quando presentes na mesma célula, podem se recombinar para produzir fatores R com novas combinações de genes em seus determinantes-r.

Em alguns casos, o acúmulo de genes de resistência dentro de um único plasmídeo é notável. Por exemplo, a Figura 8.29b mostra um mapa genético do plasmídeo de resistência R100. Há genes de resistência transportados neste plasmídeo para sulfonamidas, estreptomicina, cloranfenicol e tetraciclina, bem como genes para a resistência ao mercúrio. Esse plasmídeo particular pode ser transferido entre uma série de espécies entéricas, incluindo *Escherichia*, *Klebsiella* e *Salmonella*.

Os fatores R apresentam problemas muito sérios no tratamento de doenças infecciosas com antibióticos. O uso disseminado de antibióticos em medicina e agricultura (veja o quadro no Capítulo 20, página 577) levou à sobrevivência preferencial (seleção) de bactérias com fatores R; assim, as populações de bactérias resistentes crescem cada vez mais. A transferência de resistência entre as células bacterianas de uma população, e até mesmo entre as bactérias de diferentes gêneros, também contribui para o problema. A capacidade de se reproduzir sexualmente com membros de sua própria espécie define um eucarioto. Contudo, uma espécie bacteriana

Figura 8.28 **Transdução por um bacteriófago.** É mostrada aqui a transdução generalizada, na qual o DNA bacteriano pode ser transferido de uma célula à outra.

P **O que é transdução?**

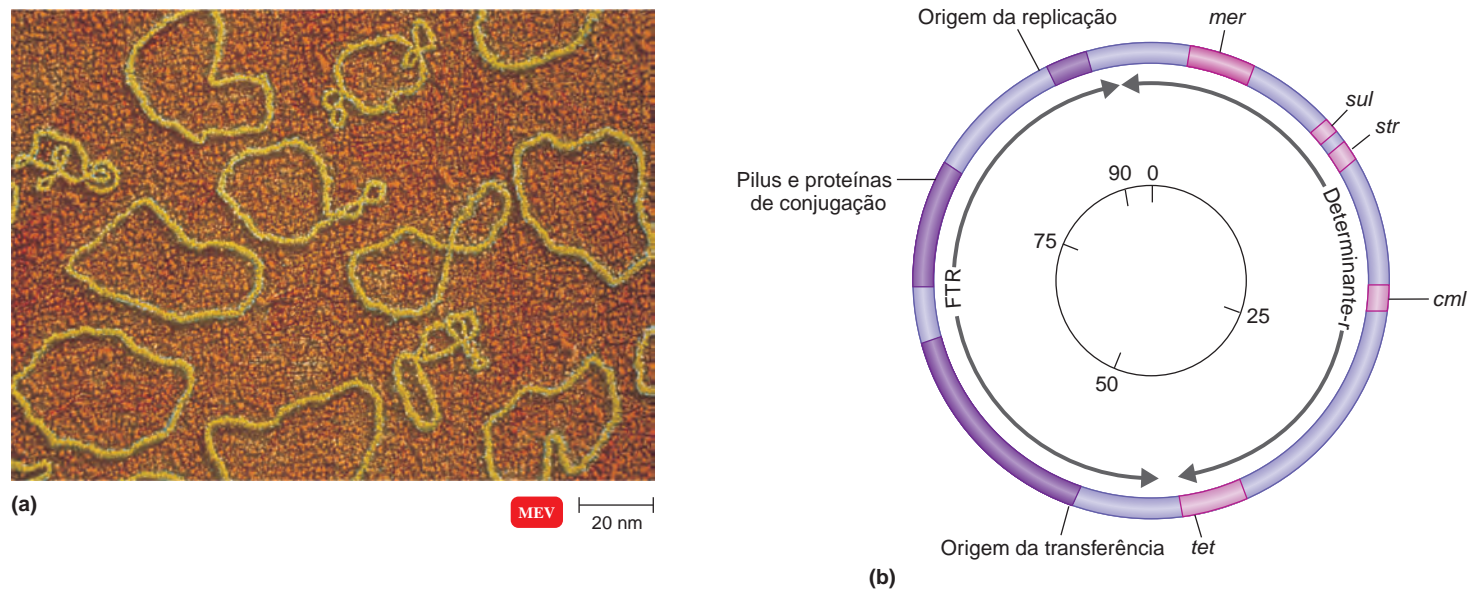



Figura 8.29 Fator R, um tipo de plasmídeo. (a) Plasmídeos isolados de bactérias *Bacterioides fragilis* que codificam a resistência ao antibiótico clindamicina. **(b)** Um diagrama de um fator R, que possui duas partes: o FTR contém genes necessários para a replicação e a transferência do plasmídeo por conjugação, e o determinante-r transporta os genes para a resistência a quatro antibióticos diferentes e mercúrio (*sul* = resistência à sulfonamida, *str* = resistência à estreptomicina, *cml* = resistência ao cloranfenicol, *tet* = resistência à tetraciclina, *mer* = resistência ao mercúrio); os números são pares de base x 1.000.

P Por que os fatores R são importantes no tratamento de doenças infecciosas?

pode conjugar e transferir plasmídeos para outras espécies. *Neisseria* pode ter adquirido seu plasmídeo produtor de penicilinase de *Streptococcus*, e *Agrobacterium* pode transferir plasmídeos para células vegetais (veja a Figura 9.20, página 265). Plasmídeos não conjugativos podem ser transferidos de uma célula para outra ao se introduzirem em um plasmídeo conjugativo ou em um cromossomo, ou por transformação quando são liberados de uma célula morta. A inserção é possível devido a uma sequência de inserção, que será discutida em breve.

Os plasmídeos são uma ferramenta importante na engenharia genética, discutida no Capítulo 9 (página 250).

Transposons

Os **transposons** são pequenos segmentos de DNA que podem se mover (ser "transpostos") de uma região de uma molécula de DNA para outra. Esses fragmentos de DNA possuem de 700 a 40.000 pares de bases de comprimento.

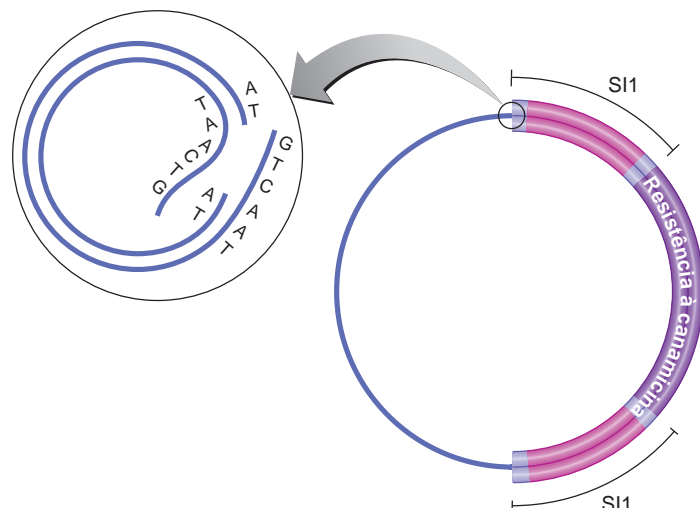
Na década de 1950, a geneticista norte-americana Barbara McClintock descobriu transposons no milho, mas eles ocorrem em todos os organismos e têm sido estudados mais cuidadosamente em micro-organismos. Eles podem se mover de um local para outro no mesmo cromossomo, ou para outro cromossomo ou plasmídeo. Como você pode imaginar, o movimento frequente dos transposons poderia ter um efeito devastador dentro de uma célula. Por exemplo, à medida que os transposons se movem nos cromossomos, eles podem se inserir *dentro* dos genes, tornando-os inativos. Felizmente, a ocorrência da transposição é relativamente rara. A frequência da transposição é comparável à taxa de mutação espontânea que ocorre nas bactérias – isto é, de 10^{-5} a 10^{-7} por geração.

Todos os transposons contêm a informação para sua própria transposição. Como mostrado na **Figura 8.30a**, os transposons mais simples, também denominados **sequências de inserção** (**SI**), contêm somente um gene que codifica uma enzima (*transposase*, que catalisa a clivagem e a remontagem do DNA que ocorrem na transposição) e sítios de reconhecimento. Os *sítios de reconhecimento* são sequências curtas do DNA repetidas e invertidas, que a enzima reconhece como sítios de recombinação entre o transposon e o cromossomo.

Os transposons complexos também transportam outros genes não conectados ao processo de transposição. Por exemplo, os transposons bacterianos podem conter genes para enterotoxinas ou

(a) Uma sequência de inserção (SI), o transposon mais simples, contém um gene para a transposase, a enzima que catalisa a transposição. O gene da transposase está ligado em cada extremidade a sequências de repetição invertidas (RI) que funcionam como sítios de reconhecimento para o transposon. SI1 é um exemplo de uma sequência de inserção, mostrada aqui com sequências RI simplificadas.

(b) Os transposons complexos transportam outros materiais genéticos além dos genes da transposase. O exemplo mostrado aqui, Tn5, carreia o gene para a resistência à canamicina e possui cópias completas da sequência de inserção SI1 em cada extremidade.

1 A transposase corta o DNA, deixando extremidades coesivas.

2 As extremidades coesivas do transposon e o DNA-alvo se anelam.

(c) A inserção do transposon Tn5 no plasmídeo R100.

Figura 8.30 **Transposons e inserção.**

P **Por que os transposons algumas vezes são denominados genes saltadores?**

para a resistência a antibióticos (**Figura 8.30b**). Plasmídeos como os fatores R frequentemente são compostos de um conjunto de transposons (**Figura 8.30c**).

Os transposons com genes de resistência a antibióticos são de interesse prático, mas não existe limitação nos tipos de genes que os transposons podem ter. Portanto, os transposons fornecem um mecanismo natural para o movimento de genes de um cromossomo para outro. Além disso, como podem ser transportados entre células em plasmídeos ou vírus, eles também podem se disseminar de um organismo para outro ou até mesmo de uma espécie para outra. Por exemplo, a resistência à vancomicina foi transferida de *Enterococcus faecalis* para *Staphylococcus aureus* via um transposon denominado Tn1546. Os transposons são, então, mediadores poderosos da evolução nos organismos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que tipos de genes os plasmídeos transportam? **8-16**

Genes e evolução

OBJETIVO DO APRENDIZADO

8-17 Discutir como a mutação genética e a recombinação fornecem material para a ocorrência da seleção natural.

Vimos como a atividade dos genes pode ser controlada pelos mecanismos reguladores internos da célula e como os genes em si podem ser alterados ou redistribuídos por mutação, transposição e recombinação. Todos esses processos fornecem diversidade aos descendentes das células. A diversidade fornece o material bruto para a evolução, e a seleção natural a perpetua. A seleção natural atuará em diversas populações para assegurar a sobrevivência dos indivíduos aptos àquele ambiente específico. Os diferentes tipos de micro-organismos que existem hoje são o resultado de uma longa história de evolução. Os micro-organismos têm continuamente sido modificados devido a alterações em suas propriedades genéticas e à aquisição de adaptações a muitos habitats diferentes.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A seleção natural significa que o ambiente favorece a sobrevivência de alguns genótipos. De onde vem a diversidade nos genótipos? **8-17**

RESUMO PARA ESTUDO

Estrutura e função do material genético

(p. 211 – 221)

1. Genética é o estudo do que são os genes, como eles transportam informação, como sua informação é expressa e como eles são replicados e passados às gerações subsequentes ou a outros organismos.
2. O DNA nas células existe como uma hélice de fita dupla; as duas fitas são mantidas juntas por ligações de hidrogênio entre pares de bases nitrogenadas específicas: AT e CG.
3. Um gene é um segmento de DNA, uma sequência de nucleotídeos que codifica um produto funcional, geralmente uma proteína.
4. O DNA em uma célula é duplicado antes que a célula se divida; então, a célula-filha receberá a mesma informação genética.

Genótipo e fenótipo (p. 211)

5. O genótipo é a composição genética de um organismo, seu complemento integral de DNA.
6. O fenótipo é a expressão dos genes: as proteínas da célula e as propriedades que elas conferem ao organismo.

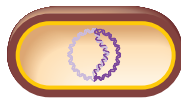
DNA e cromossomos (p. 211-212)

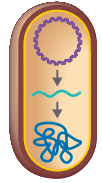
7. O DNA em um cromossomo existe como uma hélice dupla longa, associada a várias proteínas que regulam a atividade genética.
8. O DNA bacteriano é circular; o cromossomo da *E. coli*, por exemplo, contém cerca de 4 milhões de pares de bases e é aproximadamente 1.000 vezes mais longo que a célula.
9. Genômica é a caracterização molecular dos genomas.

O fluxo da informação genética (p. 212)

10. A informação contida no DNA é transcrita em RNA e traduzida em proteínas.

Replicação do DNA (p. 212-215)

11. Durante a replicação do DNA, as duas fitas da hélice dupla se separam na forquilha de replicação, e cada fita é usada como um molde pelas DNA-polimerases para sintetizar duas fitas novas de DNA de acordo com as regras do pareamento de bases nitrogenadas.
12. O resultado da replicação do DNA é a produção de duas fitas novas de DNA, cada qual tendo uma sequência de bases complementar a uma das fitas originais.
13. Como cada molécula de DNA de fita dupla contém uma fita original e uma fita nova, o processo de replicação é denominado semiconservativo.
14. O DNA é sintetizado em uma direção designada 5' → 3'. Na forquilha de replicação, a fita líder é sintetizada continuamente, e a fita complementar, descontinuamente.
15. A DNA-polimerase verifica as novas moléculas de DNA e remove as bases erradas antes de continuar a síntese do DNA.
16. Cada bactéria-filha recebe um cromossomo que é quase idêntico ao da mãe.

RNA e síntese proteica (p. 215-221)

17. Durante a transcrição, a enzima RNA-polimerase sintetiza uma fita de RNA a partir de um das fitas do DNA de fita dupla, que serve como molde.
18. O RNA é sintetizado a partir de nucleotídeos contendo as bases A, C, G e U, que fazem par com as bases da fita de DNA a ser transcrita.
19. A RNA-polimerase liga-se ao promotor; a transcrição se inicia no AUG; a região do DNA que é o ponto final da transcrição é o sítio terminador; o RNA é sintetizado na direção 5' ⟶ 3'.
20. Tradução é o processo no qual a informação na sequência de bases de nucleotídeos do mRNA é usada para ditar a sequência de aminoácidos de uma proteína.
21. O mRNA se associa aos ribossomos, que consistem em rRNA e proteína.
22. Os segmentos de três bases do mRNA que especificam os aminoácidos são denominados códons.
23. O código genético refere-se às relações entre a sequência de bases nucleotídicas do DNA, os códons correspondentes do mRNA e os aminoácidos que os códons codificam.
24. O código genético é degenerado; isto é, a maioria dos aminoácidos é codificada por mais de um códon.
25. Dos 64 códons, 61 são códons *sense* (que codificam aminoácidos) e 3 são códons sem *nonsense* (que não codificam aminoácidos e são sinais de interrupção da tradução).
26. O códon de iniciação (*start*), AUG, codifica a metionina.
27. Aminoácidos específicos são aderidos a moléculas de tRNA. Outra porção do tRNA possui um *triplet* de bases denominado anticódon.
28. O pareamento de bases dos códons e anticódons no ribossomo resulta na captação de aminoácidos específicos para o local da síntese proteica.
29. O ribossomo se move ao longo da fita de mRNA à medida que os aminoácidos são unidos para formar um polipeptídeo em crescimento; o mRNA é lido na direção 5' → 3'.
30. A tradução termina quando o ribossomo atinge um códon de parada (*stop*) no mRNA.

A regulação da expressão gênica bacteriana (p. 221-226)

1. A regulação da síntese proteica no nível genético é eficiente em termos de energia, pois as proteínas são sintetizadas somente quando necessário.
2. As enzimas constitutivas produzem seus produtos em uma velocidade fixa. Exemplos são os genes para as enzimas da glicólise.
3. Para esse mecanismo de genes reguladores, o controle é dirigido para a síntese de mRNA.

Repressão e indução (p. 224)

4. A repressão controla a síntese de uma ou várias enzimas (repressíveis).
5. Quando as células são expostas a um produto final específico, a síntese das enzimas relacionadas àquele produto diminui.

6. Na presença de certas substâncias químicas (indutores), as células sintetizam mais enzimas. Esse processo é denominado indução.
7. Um exemplo de indução é a produção de β-galactosidase pela *E. coli* na presença de lactose; assim, a lactose pode ser metabolizada.

O modelo operon de expressão gênica (p. 224, 225)

8. A formação das enzimas é determinada por genes estruturais.
9. Nas bactérias, um grupo de genes estruturais regulados coordenadamente com funções metabólicas relacionadas, além dos sítios promotor e operador que controlam sua transcrição, é denominado operon.
10. No modelo operon para um sistema indutível, um gene regulador codifica a proteína repressora.
11. Quando o indutor está ausente, o repressor liga-se ao operador, e nenhum mRNA é sintetizado.
12. Quando o indutor está presente, liga-se ao repressor, de modo que ele não pode se ligar ao operador; portanto, o mRNA é produzido, e a síntese da enzima é induzida.
13. Em sistemas repressíveis, o repressor requer um co-repressor, de modo a ligar-se ao sítio operador; portanto, o co-repressor controla a síntese da enzima.

Regulação positiva (p. 225, 226)

14. A transcrição de genes estruturais para enzimas catabólicas (como a β-galactosidase) é induzida pela ausência de glicose. O AMP e o PRC cíclicos devem se ligar a um promotor na presença de um carboidrato alternativo.
15. A presença de glicose inibe o metabolismo das fontes de carbono alternativas por repressão catabólica.

Mutação: alteração no material genético (p. 226-233)

1. A mutação é uma alteração na sequência de bases nitrogenadas do DNA; essa alteração modifica o produto codificado pelo gene mutado.
2. Muitas mutações são neutras, algumas são desvantajosas e outras são benéficas.

Tipos de mutações (p. 227-229)

3. Uma substituição de base ocorre quando um par de bases no DNA é substituído por um par diferente.
4. Alterações no DNA podem resultar em mutações *missense* (que causam substituições de aminoácidos) ou *nonsense* (que criam códons de parada – *stop*).
5. Em uma mutação de troca de fase de leitura (*frameshift*), um ou poucos pares de bases são deletados ou adicionados ao DNA.
6. Os mutagênicos são agentes ambientais que causam alterações permanentes no DNA.
7. As mutações espontâneas ocorrem sem a presença de um mutagênico.

Mutagênicos (p. 229-231)

8. Os mutagênicos químicos incluem os mutagênicos de pares de bases, os análogos de nucleosídeo e os mutagênicos de troca de fase de leitura.
9. A radiação ionizante causa a formação de íons e radicais livres que reagem com o DNA; isso resulta em substituições de base ou rompimento do esqueleto de açúcar-fosfato.
10. A radiação ultravioleta (UV) não é ionizante; ela causa ligações entre as timinas adjacentes.
11. O dano ao DNA causado pela radiação UV pode ser reparado por enzimas que clivam e substituem a porção lesionada do DNA.
12. As enzimas de reparo em presença de luz reparam os dímeros de timina quando há luz visível.

A frequência de mutação (p. 231)

13. A taxa de mutação é a probabilidade de que um gene irá ser mutado quando uma célula se dividir; a taxa é expressa como 10 em uma potência negativa.
14. As mutações normalmente ocorrem de modo aleatório ao longo de um cromossomo.
15. Uma taxa baixa de mutações espontâneas é benéfica, fornecendo a diversidade genética necessária para a evolução.

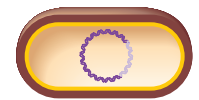
Identificando mutantes (p. 231, 232)

16. Os mutantes podem ser detectados por meio de seleção ou testes para um fenótipo alterado.
17. A seleção positiva envolve a seleção de células mutantes e a rejeição de células não mutadas.
18. A placa réplica é usada para a seleção negativa – para detectar, por exemplo, auxotróficos que possuem necessidades nutricionais que a célula parental não possui.

Identificando carcinógenos químicos (p. 232, 233)

19. O teste de Ames é um exame relativamente barato e rápido para identificar possíveis carcinógenos químicos.
20. O teste presume que uma célula mutante pode reverter para uma célula normal em presença de um mutagênico e que muitos mutagênicos são carcinógenos.

Transferência genética e recombinação (p. 233-241)

1. A recombinação genética, o rearranjo dos genes a partir de grupos separados de genes, normalmente envolve o DNA de organismos diferentes; ela contribui para a diversidade genética.
2. No *crossing over*, os genes de dois cromossomos são recombinados em um novo cromossomo, que contém alguns genes de cada cromossomo original.
3. A transferência gênica vertical ocorre durante a reprodução quando os genes são passados de um organismo para seus descendentes.
4. A transferência gênica horizontal nas bactérias envolve a transferência de um fragmento do DNA da célula de um doador para um receptor,
5. Quando parte do DNA do doador é integrada ao DNA do receptor, a célula resultante é denominada recombinante.

Transformação em bactérias (p. 234-236)

6. Durante este processo, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como DNA “nu” em solução.
7. Esse processo ocorre naturalmente entre poucos gêneros de bactérias.

Conjugação em bactérias (p. 236, 237)

8. Esse processo requer o contato entre as células vivas.
9. Um tipo de célula doadora genética é F^+; as células receptoras são F^-. As células F contêm plasmídeos denominados fatores F, que são transferidos para as células F^- durante a conjugação.
10. Quando o plasmídeo é incorporado ao cromossomo, a célula é denominada Hfr (alta frequência de recombinação).

11. Durante a conjugação, uma célula Hfr pode transferir o DNA cromossômico para uma célula F⁻. Normalmente, o cromossomo Hfr se rompe antes de ser transferido completamente.

Transdução em bactérias (p. 237)

12. Nesse processo, o DNA é passado de uma bactéria para outra em um bacteriófago, sendo então incorporado ao DNA do receptor.

13. Na transdução generalizada, quaisquer genes bacterianos podem ser transferidos.

Plasmídeos e transposons (p. 237-241)

14. Os plasmídeos são moléculas de DNA circulares autorreplicativas, transportando genes que geralmente são não essenciais para a sobrevivência da célula.

15. Existem vários tipos de plasmídeos, incluindo plasmídeos conjugativos, plasmídeos de dissimilação, plasmídeos que transportam genes para toxinas ou bacteriocinas e fatores de resistência.

16. Os transposons são pequenos segmentos de DNA que podem se mover de uma região para outra do mesmo cromossomo, ou para um cromossomo diferente ou para um plasmídeo.

17. Os transposons são encontrados nos principais cromossomos dos organismos, em plasmídeos e no material genético dos vírus. Eles variam de simples (sequências de inserção) a complexos.

18. Os transposons complexos podem transportar qualquer tipo de gene, incluindo genes de resistência a antibióticos, sendo assim, um mecanismo natural para mover genes de um cromossomo para outro.

Genes e evolução (p. 241)

1. A diversidade é a pré-condição para a evolução.

2. A mutação e a recombinação genética fornecem uma diversidade de organismos, e o processo de seleção natural permite o crescimento daqueles mais bem adaptados a um dado ambiente.

QUESTÕES PARA ESTUDO

A respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Descreva brevemente os componentes do DNA e explique suas relações funcionais com o RNA e as proteínas.

2. **DESENHE** Identifique e marque cada uma das seguintes partes do DNA passando pela replicação: forquilha de replicação, DNA-polimerase, RNA iniciador, fitas parentais, fita líder e fita atrasada, além da direção da replicação em cada uma das fitas e a extremidade final 5′ de cada fita.

3. O que se segue é um código para a fita de DNA.

DNA	3'	A	T	A	T	–	–	–	T	T	T	–	–	–	–	–	–	–	–	-
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
mRNA												C	G	U				U	G	A
tRNA															U	G	G			

Aminoácido Met _______ _______ _______ _______

ATAT = Sequência promotora

a. Utilizando o código genético fornecido na Figura 8.8, preencha os intervalos para completar o segmento de DNA mostrado.

b. Preencha o espaço para completar a sequência de aminoácidos codificada por esta fita de DNA.

c. Escreva o código da fita complementar de DNA completado na parte (a).

d. Qual seria o efeito se T fosse substituído por C na base 10?

e. Qual seria o efeito se G fosse substituído por A na base 11?

f. Qual seria o efeito se G fosse substituído por T na base 14?

g. Qual seria o efeito se C fosse inserido entre as bases 9 e 10?

h. Como a radiação UV afetaria esta fita de DNA?

i. Identifique uma sequência *nonsense* nesta fita de DNA.

4. Correlacione os seguintes exemplos de mutagênicos.

Coluna A	Coluna B
____a. Um mutagênico que é incorporado ao DNA no lugar de uma base normal.	1. Mutagênico de troca de fase de leitura.
____b. Um mutagênico que causa a formação de íons altamente reativos.	2. Análogo de nucleosídeo.
____c. Um mutagênico que altera a adenina, de modo que ela faz par com a citosina.	3. Mutagênico de par de bases.
____d. Um mutagênico que causa inserções.	4. Radiação ionizante.
____e. Um mutagênico que causa a formação de dímeros de pirimidina.	5. Radiação não ionizante.

5. Utilize a via metabólica abaixo para responder as questões que seguem.

$$\text{Substrato A} \xrightarrow{\textit{enzima a}} \text{Intermediário B} \xrightarrow{\textit{enzima b}} \text{Produto final C}$$

a. Se a enzima *a* é indutível e não está sendo sintetizada no momento, (1) uma proteína________________ deve ser ligada firmemente ao sítio (2)______________. Quando o indutor está presente, ele irá se ligar ao (3)__________________de modo que (4) _______________ possa ocorrer.

b. Se a enzima *a* é repressível, o produto final C, denominado (1) ______________, faz (2) __________________ se ligar a (3) ________________. O que causa a depressão?

c. Se a enzima *a* é constitutiva, que efeito, se houver, a presença de A ou C terá sobre ela?

6. Que sequência é o melhor alvo para dano por radiação UV: AGGCAA, CTTTGA ou GUAAAU? Por que todas as bactérias não são mortas quando são expostas à luz solar?

7. Você recebe culturas com as seguintes características:
Cultura 1: F⁺, genótipo $A^+ B^+ C^+$
Cultura 2: F⁻, genótipo $A^- B^- C^-$

a. Indique os genótipos possíveis de uma célula recombinante resultante da conjugação das culturas 1 e 2.
b. Indique os genótipos possíveis de uma célula recombinante resultante da conjugação das duas culturas após a célula F^+ ter se tornado Hfr.

8. Por que a replicação semiconservativa e a degeneração do código genético são vantajosas para a sobrevivência das espécies?
9. Por que a mutação e a recombinação são importantes no processo de seleção natural e evolução dos organismos?

Múltipla escolha

Correlacione os seguintes termos com as definições nas questões 1 e 2.

a. Conjugação. **b.** Transcrição. **c.** Transdução. **d.** Transformação. **e.** Tradução.

1. A transferência de DNA de uma célula doadora para uma receptora por um bacteriófago.
2. A transferência de DNA de um doador para um receptor como DNA nu em solução.
3. A inibição por retroalimentação difere da repressão, pois esse tipo de inibição
   a. É menos preciso.
   b. É mais lento.
   c. Interrompe a ação das enzimas preexistentes.
   d. Interrompe a síntese de novas enzimas.
   e. Todas as alternativas.
4. As bactérias podem adquirir resistência a antibióticos por todas as alternativas que se seguem, exceto por
   a. Mutação.
   b. Inserção de transposons.
   c. Conjugação.
   d. snRNPs.
   e. Transformação.
5. Suponha que você inocule três frascos de caldo de sais mínimos com *E. coli*. O frasco A contém glicose. O frasco B contém glicose e lactose. O frasco C contém lactose. Após algumas horas de incubação, você testa os frascos para a presença de β-galactosidase. Que frasco(s) você prevê que terá(ão) esta enzima?
   a. A. **b.** B. **c.** C. **d.** A e B. **e.** B e C.
6. Os plasmídeos diferem dos transposons, pois os plasmídeos
   a. Tornam-se inseridos nos cromossomos.
   b. São autorreplicados fora do cromossomo.
   c. Movem-se de um cromossomo para outro.
   d. Transportam genes para resistência a antibióticos.
   e. Nenhuma das alternativas.

Use as seguintes opções para responder as questões 7 e 8.

a. Repressão catabólica. **b.** DNA-polimerase. **c.** Indução. **d.** Repressão. **e.** Tradução.

7. O mecanismo pelo qual a presença de glicose inibe o operon *lac.*
8. O mecanismo pelo qual a lactose controla o operon *lac*.
9. Duas células-filhas têm maior probabilidade de herdar da célula parental qual das alternativas abaixo?
   a. Uma alteração em um nucleotídeo no mRNA.
   b. Uma alteração em um nucleotídeo no tRNA.
   c. Uma alteração em um nucleotídeo no rRNA.
   d. Uma alteração em um nucleotídeo no DNA.
   e. Uma alteração em uma proteína.
10. Qual das seguintes alternativas não é um método de transferência gênica horizontal?
   a. Fissão binária.
   b. Conjugação.
   c. Integração de um transposon.
   d. Transdução.
   e. Transformação.

Pensamento crítico

1. Os análogos de nucleosídeo e a radiação ionizante são usados no tratamento do câncer. Esses mutagênicos podem causar câncer; assim, como você supõe que eles sejam usados para tratar a doença?
2. A replicação do cromossomo da *E. coli* leva de 40 a 45 minutos, mas o organismo tem um tempo de geração de 26 minutos. Como a célula tem tempo para fazer cromossomos completos para cada célula-filha? E para cada célula-neta?
3. *Pseudomonas* possui um plasmídeo contendo o operon *mer*, o qual inclui o gene para a redutase mercúrica. Essa enzima catalisa a redução do íon mercúrico Hg^{2+} para a forma não carregada de mercúrio, Hg^0. O Hg^{2+} é muito tóxico para as células; o Hg^0 não é.
   a. Na sua opinião, qual é o indutor para este operon?
   b. A proteína codificada por um dos genes *mer* liga-se ao Hg^{2+} no periplasma e o leva para dentro da célula. Por que uma célula captaria uma toxina?
   c. Qual o valor do operon *mer* para *Pseudomonas*?

Aplicações clínicas

1. A ciprofloxacina, a eritromicina e o aciclovir são usados para tratar infecções microbianas. A ciprofloxacina inibe a DNA-girase. A eritromicina liga-se na frente do sítio A, na subunidade 50S de um ribossomo. O aciclovir é um análogo da guanina.
   a. Quais etapas na síntese proteica são inibidas por cada droga?
   b. Qual droga é mais efetiva contra bactérias? Por quê?
   c. Qual droga é mais efetiva contra vírus? Por quê?
   d. Quais drogas terão efeitos nas células hospedeiras? Por quê?
   e. Use o índice para identificar a doença para a qual o aciclovir é mais usado. Por que ele é mais eficaz que a eritromicina para tratar essa doença?
2. HIV, o vírus que causa a Aids, foi isolado de três indivíduos, e as sequências de aminoácidos do capsídeo viral foram determinadas. Das sequências de aminoácidos mostradas a seguir, dois vírus são mais estreitamento relacionados. Quais deles? Por que estas sequências de aminoácidos podem ser usadas para identificar a fonte de um vírus?

Paciente	Sequência de aminoácidos virais
A	Asn Gln Thr Ala Ala Ser Lys Asn Ile Asp Ala Leu
B	Asn Leu His Ser Asp Lys Ile Asn Ile Ile Leu Leu
C	Asn Gln Thr Ala Asp Ser Ile Vai Ile Asp Ala Leu

3. O herpesvírus humano 8 (HHV-8) é comum em certas partes da África, do Oriente Médio e do Mediterrâneo, mas é raro fora desses lugares – a não ser em pacientes com Aids. Análises genéticas indicam que a linhagem africana não está sendo alterada, enquanto a linhagem ocidental está acumulando alterações. Usando os fragmentos do genoma do HHV-8 (mostrados a seguir) que codificam uma das proteínas virais, quais são as semelhanças entre esses dois vírus? Qual é o mecanismo responsável pelas alterações? Qual a doença causada pelo HHV-8?

Ocidental 3' ATGGAGTTCTTCTGGACAAGA
Africano 3' ATAAACTTTTTCTTGACAACG

9 Biotecnologia e DNA Recombinante

Por centenas de anos, as pessoas têm consumido alimentos que são produzidos pela ação de micro-organismos. Pão, chocolate e molho de soja são alguns dos exemplos mais conhecidos. Mas foi somente há pouco mais de 100 anos que os cientistas demonstraram que os micro-organismos são responsáveis por esses produtos. Esse conhecimento abriu o caminho para o uso de micro--organismos na manufatura de outros produtos importantes. Desde a Primeira Guerra Mundial, os micróbios têm sido usados para produzir uma variedade de substâncias químicas, como o etanol, a acetona e o ácido cítrico. Desde a Segunda Guerra Mundial, os micro-organismos têm sido cultivados em larga escala para produzir antibióticos. Mais recentemente, os micróbios e suas enzimas têm substituído uma variedade de processos químicos envolvidos na fabricação de produtos, como papel, tecidos e frutose. O uso de micróbios ou de suas enzimas em vez de substâncias químicas oferece várias vantagens: os micróbios podem usar matérias primas baratas e abundantes como amido –, podem trabalhar sob temperaturas e pressões normais, evitando, portanto, a necessidade de sistemas pressurizados caros e perigosos, e não produzem resíduos tóxicos e difíceis de lidar.

Neste capítulo você aprenderá sobre as ferramentas e as técnicas que são utilizadas para pesquisar e desenvolver um produto. Você também verá como a tecnologia do DNA recombinante é usada para investigar surtos de doenças infecciosas e fornecer evidências para tribunais de justiça em microbiologia forense.

SOB O MICROSCÓPIO

Escherichia coli. Esta bactéria foi alterada geneticamente para produzir uma proteína humana, o interferon gama. Diferente das células humanas, a *E. coli* não secreta as proteínas, então as células serão submetidas à lise para que a proteína seja recuperada.

P&R

Há trinta anos, pesquisadores sabiam que os interferons são agentes antivirais eficazes. Entretanto, eles descobriram que os interferons são espécie--específicos, e desta forma, para que pudessem ser utilizados em seres humanos, deveriam ser produzidos em células humanas. Os pesquisadores temiam que os interferons tivessem que ser utilizados em quantidades limitadas sempre. Você pode pensar em uma maneira de aumentar o suprimento de interferons para que eles pudessem ser utilizados no tratamento de doenças?

Procure pela resposta neste capítulo.

Introdução à biotecnologia

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

9-1 Comparar e diferenciar biotecnologia, engenharia genética e tecnologia do DNA recombinante.

9-2 Identificar as funções de um clone e de um vetor na construção do DNA recombinante.

Biotecnologia é a utilização de micro-organismos, células ou componentes celulares para fazer um produto. Os micróbios têm sido utilizados na produção comercial de alimentos, vacinas, antibióticos e vitaminas há anos. As bactérias também têm sido usadas na mineração para extrair elementos valiosos do minério (veja a Figura 28.14, página 807). Além disso, as células animais têm sido utilizadas na produção de vacinas virais desde a década de 1950. Até os anos de 1980, os produtos feitos por células vivas eram produzidos pelas células naturalmente; o papel dos cientistas era encontrar a célula apropriada e desenvolver um método de cultivo em larga escala.

Agora, os micro-organismos, bem como as plantas, estão sendo usados como "fábricas" para produzir as substâncias químicas que os organismos não produzem de forma natural. Isso é possível por meio da inserção de genes nas células, um processo denominado **tecnologia do DNA recombinante (rDNA)**, também chamado de engenharia genética. O desenvolvimento da engenharia genética está expandindo, as aplicações práticas da biotecnologia.

Tecnologia do DNA recombinante

Lembre-se do Capítulo 8 que a recombinação do DNA ocorre naturalmente nos micróbios. Nas décadas de 1970 e 1980, os cientistas desenvolveram técnicas artificiais para fazer DNA recombinante.

Um gene de um animal invertebrado, inclusive do homem, pode ser inserido no DNA de uma bactéria, ou um gene de um vírus pode ser inserido em uma levedura. Em muitos casos, pode-se fazer o receptor expressar o gene, que pode codificar um produto comercialmente útil. Assim, bactérias com genes de insulina humana estão sendo agora utilizadas para produzir insulina para o tratamento do diabetes, e uma vacina contra a hepatite B está sendo produzida em uma levedura portadora do gene que codifica parte do vírus causador da doença (a levedura produz uma proteína do capsídeo viral). Os cientistas esperam que esta abordagem se torne útil para a produção de vacinas contra outros agentes infecciosos, eliminando a necessidade de usar micro-organismos completos, como nas vacinas convencionais.

As técnicas de rDNA também podem ser usadas para fazer milhares de cópias de uma mesma molécula de DNA – para *amplificar* DNA, gerando assim DNA suficiente para vários tipos de experimentos e análises. Essa técnica tem aplicação prática para a identificação de micróbios, como os vírus, que não crescem em cultura celular.

Visão geral da tecnologia do DNA recombinante

A **Figura 9.1** apresenta uma visão geral de alguns dos procedimentos tipicamente utilizados pela tecnologia do rDNA, juntamente com algumas aplicações promissoras. O gene de interesse é inserido no DNA do vetor *in vitro*. Neste exemplo, o vetor é um plasmídeo. A molécula de DNA escolhida como vetor deve ser do tipo autorreplicativo, como um plasmídeo ou um genoma viral. A seguir, o vetor recombinante de DNA é introduzido em uma célula, como uma bactéria, por exemplo, onde ele pode multiplicar-se. A célula contendo o vetor recombinante é, então, multiplicada em cultura para formar um **clone** de muitas células geneticamente idênticas, cada um dos quais carregando uma cópia do vetor. Esse clone de células, portanto, contém muitas cópias do gene de interesse. Por isso, os vetores de DNA com frequência são chamados de *vetores de clonagem de genes*, ou simplesmente vetores de clonagem. (O verbo derivado da palavra *clone* – *clonar* – também é utilizado rotineiramente para descrever todo o processo, como em "clonar um gene".)

A etapa final varia de acordo com os objetivos de interesse, se é o próprio gene ou o seu produto. A partir do clone de células, o pesquisador pode isolar ("selecionar") grandes quantidades do gene de interesse, que pode então ser utilizado para vários propósitos. O gene pode até mesmo ser inserido em um outro vetor para a introdução em outro tipo de célula (como uma célula vegetal ou animal). Alternativamente, se o gene de interesse é expresso (transcrito ou traduzido) no clone de células, seu produto proteico pode ser selecionado e utilizado para vários propósitos.

As vantagens da utilização do rDNA para a obtenção dessas proteínas são ilustradas por um de seus primeiros êxitos: a produção do hormônio de crescimento humano (*hGH*, de *human growth hormone*). Alguns indivíduos não produzem quantidades adequadas de hGH, e por isso apresentam deficiência no crescimento. No passado, o hGH necessário para corrigir esta deficiência tinha que ser obtido de glândulas pituitárias humanas em autópsias. (O hGH de outros animais não funciona em seres humanos.) Essa prática, além de cara, também era perigosa, pois em várias ocasiões doenças neurológicas eram transmitidas com o hormônio. O hGH produzido por *E. coli* geneticamente modificada é puro e de custo mais acessível. Técnicas de rDNA também resultam em uma produção mais rápida de hormônio, o que não é possível com os métodos tradicionais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Diferencie biotecnologia e tecnologia do DNA recombinante. **9-1**
- ✓ Como um vetor e um clone são usados? **9-2**

Ferramentas da biotecnologia

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

9-3 Comparar seleção e mutação.

9-4 Definir enzimas de restrição e como elas são utilizadas na engenharia genética.

9-5 Listar as quatro propriedades dos vetores.

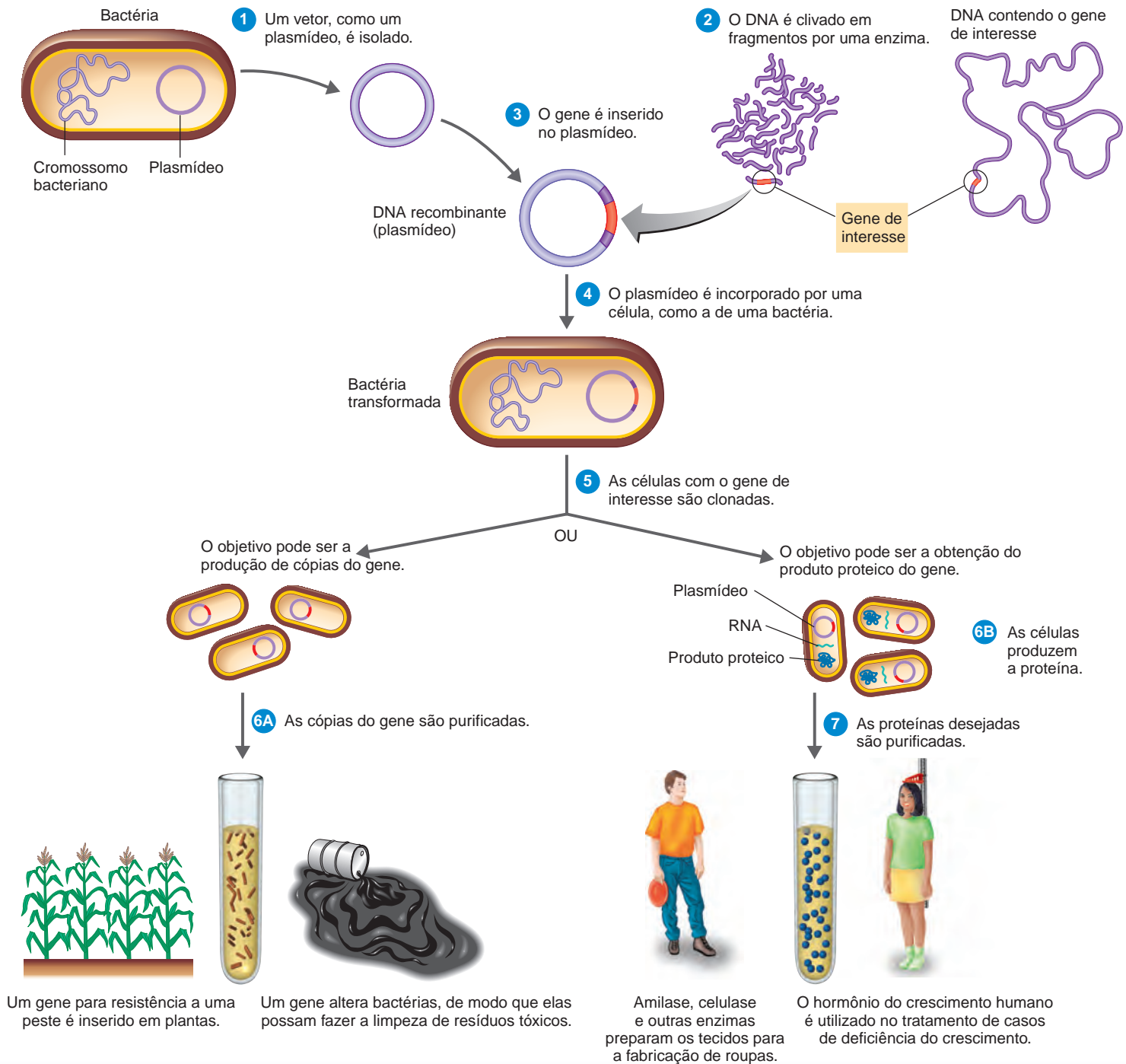
9-6 Descrever a utilização de plasmídeos e vetores virais.

9-7 Definir os passos da PCR e exemplificar o seu uso.

Os cientistas e os técnicos pesquisadores isolam bactérias e fungos a partir de ambientes naturais como o solo e a água, para encontrar

Figura 9.1

FIGURA FUNDAMENTAL Um procedimento típico de engenharia genética

Esta figura mostra uma visão geral da construção de uma célula recombinante e apresenta alguns exemplos de sua aplicação.

Conceito-chave

Genes pertencentes a uma determinada célula de um organismo podem ser inseridos e expressos em células de outro organismo. Células geneticamente modificadas podem ser utilizadas para produzir uma grande variedade de produtos proteicos úteis.

ou *selecionar* os organismos que produzem um produto desejado. O organismo selecionado pode ser submetido a mutações para produzir mais do produto ou um produto melhor.

Seleção

Na natureza, organismos com características que aumentem as chances de sobrevivência têm maior probabilidade de sobreviver e de se reproduzir do que as variantes que não possuem esses traços. Isso se chama *seleção natural*. Os seres humanos usam a **seleção artificial** para escolher as raças desejadas de animais ou variedades de plantas para serem cultivadas. Quando os microbiologistas aprenderam como isolar e cultivar micro-organismos, em cultura pura, eles se tornaram capazes de selecionar somente aqueles que poderiam atingir o objetivo desejado, como produzir cerveja de forma mais eficiente, por exemplo, ou um novo antibiótico. Mais de 2 mil variedades de bactérias produtoras de antibióticos foram descobertas por meio de testes em bactérias no solo e seleção das variedades que produzem antibióticos. O quadro no Capítulo 28 descreve a seleção de uma bactéria que converte resíduos em um produto valioso.

Mutação

Como vimos no Capítulo 8, as mutações são responsáveis por grande parte da diversidade da vida. Uma bactéria com uma mutação que confere resistência a um antibiótico irá sobreviver e se reproduzir na presença deste antibiótico. Biólogos trabalhando com micróbios produtores de antibióticos descobriram que poderiam criar novas variedades se expusessem os micro-organismos a agentes mutagênicos. Após a criação de mutações aleatórias no fungo produtor de penicilina, o *Penicillium*, pela exposição de culturas do fungo à radiação, a variante com maior rendimento dentre os sobreviventes foi selecionada para uma nova exposição a um mutagênico. Usando as mutações, os biólogos aumentaram a quantidade de penicilina produzida pelo fungo em mais de mil vezes.

O exame de cada mutante para detectar a produção de penicilina é um processo tedioso. A **mutagênese sítio-dirigida** pode ser usada para fazer uma alteração específica em um gene. Suponha que você determine que a alteração de um aminoácido fará as enzimas que atuam no detergente durante a lavagem de roupa trabalharem melhor na água fria. Usando o código genético (veja a Figura 8.8, página 219), você poderia criar a sequência do DNA que codifica aquele aminoácido e o inserir no gene da enzima, usando as técnicas descritas a seguir.

A ciência da engenharia genética avançou a um nível tal que muitos procedimentos de clonagem rotineiros já são realizados utilizando materiais pré-preparados e seguindo protocolos muito similares a receitas de bolo. Os engenheiros genéticos possuem um repertório de métodos à disposição, que são utilizados de acordo com o objetivo final de cada experimento. A seguir, descreveremos algumas das mais importantes ferramentas e técnicas e, mais tarde, consideraremos algumas aplicações específicas.

Enzimas de restrição

A engenharia genética tem as suas raízes técnicas na descoberta das **enzimas de restrição**, uma classe especial de enzimas que clivam o DNA e que existem em muitas bactérias. As enzimas de restrição foram isoladas pela primeira vez em 1970, embora elas tenham sido

Tabela 9.1 Algumas enzimas de restrição usadas em engenharia genética

Enzima	Bactéria em que a enzima é isolada	Sequência reconhecida
*Bam*HI	*Bacillus amyloliquefaciens*	G↓G A T C C C C T A G↑G
*Eco*RI	*Escherichia coli*	G↓A A T T C C T T A A↑G
*Hae*III	*Haemophilus aegyptius*	G G↓C C C C↑G G
*Hind*III	*Haemophilus influenzae*	A↓A G C T T T T C G A↑A

observadas na natureza antes disso, quando foi descoberto que certos bacteriófagos tinham uma gama restrita de hospedeiros. Se esses fagos eram utilizados para infectar outras bactérias que não suas hospedeiras habituais, eles tinham quase todo o seu DNA destruído pelas enzimas de restrição das novas bactérias hospedeiras. As enzimas de restrição protegem uma célula bacteriana pela hidrólise do DNA do fago. O DNA bacteriano é protegido da digestão porque a célula **metila** acrescenta grupos metil a algumas das citosinas do seu DNA. As formas purificadas destas enzimas bacterianas são utilizadas atualmente pelos engenheiros genéticos.

O que é importante para a engenharia genética é que uma enzima de restrição reconhece e cliva, ou *digere*, somente uma determinada sequência de bases nucleotídicas no DNA, e ela cliva essa sequência sempre da mesma maneira. As enzimas de restrição típicas utilizadas em experimentos de clonagem reconhecem sequências de quatro, seis ou oito bases. Centenas de enzimas de restrição são conhecidas, e cada uma produz fragmentos de DNA com as extremidades clivadas de modo característico. Algumas enzimas de restrição estão listadas na **Tabela 9.1**. Você pode observar que o nome das enzimas de restrição é determinado de acordo com a espécie bacteriana na qual ela é isolada. Algumas dessas enzimas (p. ex., *Hae*III) clivam ambas as fitas do DNA em um mesmo ponto, produzindo **extremidades cegas**, e outras fazem cortes escalonados nas duas fitas – os cortes não são diretamente opostos um ao outro (**Figura 9.2**). Essas extremidades escalonadas, ou **extremidades coesivas**, são as mais utilizadas na engenharia genética, uma vez que podem unir duas peças diferentes de DNA, previamente cortadas pela mesma enzima. As extremidades coesivas do DNA se ligam uma às outras por complementaridade de bases.

Observe na Figura 9.2 que as sequências nucleotídicas em negrito são as mesmas nas duas fitas, mas elas se estendem em direções opostas. As clivagens escalonadas geram segmentos curtos de DNA de fita simples nas extremidades dos fragmentos de DNA. Se dois fragmentos de DNA de diferentes origens forem produzidos pela ação da mesma enzima de restrição, ambos terão

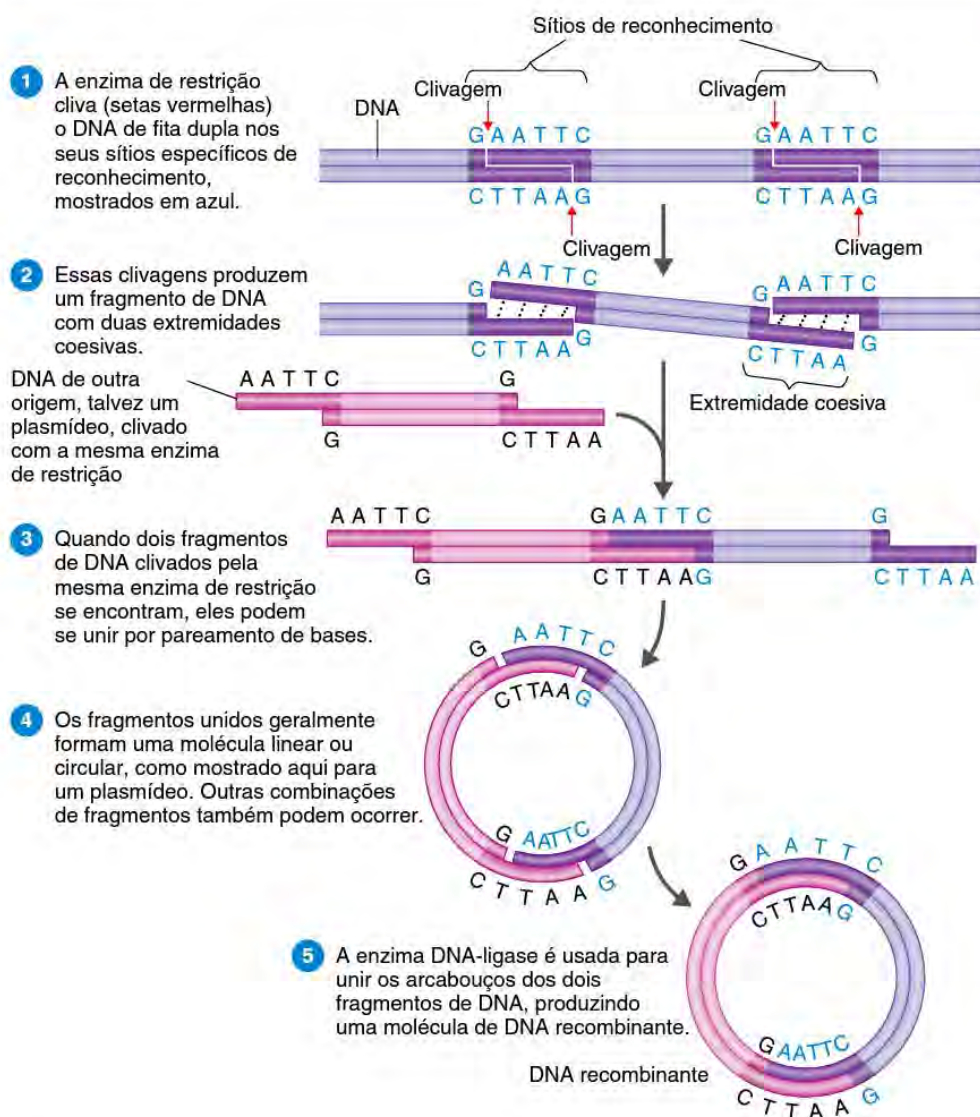



Figura 9.2 A função de uma enzima de restrição no processo de produção de uma molécula de DNA recombinante.

P Por que as enzimas de restrição são usadas em engenharia genética?

extremidades coesivas idênticas e poderão ser unidos (recombinados) *in vitro*. As extremidades coesivas se unem de modo espontâneo por ligação de hidrogênio (pareamento de bases). A enzima DNA-ligase é usada para unir covalentemente os arcabouços de diferentes moléculas de DNA, produzindo moléculas de rDNA.

Vetores

Existe um grande número de tipos de moléculas de DNA que podem ser utilizadas como vetores, bastando para isso que elas tenham certas propriedades. A propriedade mais importante é a autorreplicação: uma vez no interior de uma célula, um vetor deve ser capaz de replicar-se. Qualquer molécula de DNA que for clonada no vetor, também será replicada nesse processo. Assim, os vetores funcionam como veículos para a replicação de sequências de DNA de interesse.

É também necessário que os vetores tenham um tamanho que permita que eles sejam manipulados fora da célula, durante o processo de construção do rDNA. Os vetores menores são manipulados mais facilmente que moléculas de DNA maiores, que tendem a ser mais frágeis. A preservação é outra propriedade importante dos vetores. A forma circular das moléculas de DNA é um fator importante para a proteção do DNA do vetor da sua eventual destruição pela célula receptora. Observe na **Figura 9.3** que o DNA de um plasmídeo é circular. Um outro mecanismo de preservação ocorre quando o DNA de um vírus se insere rapidamente no cromossomo do hospedeiro (veja o Capítulo 13, página 380).

Quando é necessário recuperar células contendo o vetor, a presença de um gene marcador vetorial muitas vezes pode facilitar o processo de seleção. Os genes marcadores selecionáveis mais comuns são aqueles para a resistência a antibióticos ou para enzimas que realizam reações facilmente identificáveis.

Alguns dos principais vetores utilizados atualmente são plasmídeos, em especial variantes de plasmídeos com fatores R. O DNA plasmidial pode ser clivado com as mesmas enzimas de restrição que o DNA a ser clonado, ficando assim todos os fragmentos de DNA com as mesmas extremidades coesivas. Quando os fragmen-

tos são misturados, o DNA a ser clonado é inserido no plasmídeo (veja a Figura 9.2). Note que outras combinações de fragmentos são possíveis e podem ocorrer, inclusive a recirculação do plasmídeo sem nenhum fragmento de DNA inserido.

Alguns plasmídeos são capazes de subsistir em várias espécies diferentes. Eles são chamados de **vetores bifuncionais** e podem ser utilizados para mover sequências de DNA clonadas de um organismo para outro, como entre células bacterianas, de leveduras e de mamíferos ou entre células bacterianas, de fungos e de vegetais. Os vetores bifuncionais podem ser muito úteis no processo de modificação genética de organismos multicelulares – por exemplo, na tentativa de inserir genes de resistência a herbicidas em plantas.

Um tipo distinto de vetor é o DNA viral. Esse tipo de vetor pode normalmente aceitar fragmentos de DNA exógeno muito maiores que o tamanho máximo aceito por plasmídeos. Após o DNA ter sido inserido no vetor viral, ele pode ser clonado nas células hospedeiras do vírus. A escolha de um vetor adequado depende de muitos fatores, inclusive do organismo que receberá o novo gene e do tamanho do DNA a ser clonado. Retrovírus, adenovírus e herpesvírus estão sendo usados para inserir genes corretivos em células humanas que contenham genes defectivos. A terapia gênica será discutida na página 259.

Figura 9.3 Um plasmídeo usado em clonagens. pUC19 é um vetor plasmidial utilizado para clonagem na bactéria *E. coli*. Uma origem de replicação (*ori*) permite que o plasmídeo seja autorreplicativo. Dois genes, um codificando resistência contra o antibiótico ampicilina (*amp*) e o outro codificando a enzima β-galactosidase (*lacZ*), servem de marcadores gênicos. DNA exógeno pode ser inserido nos sítios de clivagem para enzimas de restrição.

P O que é um vetor na engenharia genética?

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como a seleção e a mutação são utilizadas na biotecnologia? **9-3**
- ✓ Qual a importância das enzimas de restrição na engenharia genética? **9-4**
- ✓ Que critérios devem ser respeitados na escolha de um vetor? **9-5**
- ✓ Por que um vetor é utilizado em engenharia genética? **9-6**

Reação em cadeia da polimerase

A **reação em cadeia da polimerase (PCR**, de *Polymerase Chain Reaction***)** é uma técnica em que pequenas amostras de DNA podem ser rapidamente amplificadas, isto é, aumentadas em quantidades suficientes para que a análise seja feita.

Iniciando com somente um fragmento de DNA do tamanho de um gene, a PCR pode ser utilizada para produzir literalmente bilhões de cópias em poucas horas. A **Figura 9.4** mostra o processo da PCR.

1. Cada fita do DNA-alvo servirá como molde para a síntese do DNA.
2. Acrescenta-se a este DNA uma provisão dos quatro nucleotídeos (para serem montados dentro do novo DNA) e a enzima para catalisar a síntese, a DNA-polimerase (veja o Capítulo 8, página 213). Pequenos fragmentos de ácido nucleico, denominados iniciadores (ou *primers*), são complementares às extremidades do DNA-alvo e
3. irão se anelar aos fragmentos a serem amplificados.
4. A polimerase, então, sintetiza novos fragmentos complementares.
5. Depois de cada ciclo, o DNA é aquecido para converter todo o novo DNA em fitas simples. Cada fita de DNA recém-sintetizada funciona, por sua vez, como molde para novos DNAs.

Como resultado, o processo continua exponencialmente. Todos os reagentes necessários são adicionados em um tubo, que é então colocado em um *termociclador*. O termociclador pode ser ajustado para a temperatura, o tempo e o número de ciclos desejados. O uso de termociclador automatizado é possível devido à utilização da DNA-polimerase retirada da bactéria termofílica *Thermus aquaticus*; a DNA-polimerase desses organismos pode sobreviver à fase do aquecimento sem ser destruída. Trinta ciclos, completados em apenas algumas horas, irão aumentar a quantidade de DNA-alvo em mais de um bilhão de vezes.

O DNA amplificado pode ser visualizado por eletroforese em gel. Na *PCR em tempo real*, o DNA recém-formado é marcado com um corante fluorescente, e assim os níveis de fluorescência podem ser medidos após cada ciclo de PCR (por isso a designação tempo real). Outra modalidade da PCR, denominada *transcrição reversa*, utiliza RNA viral ou mRNA como molde. Nesse caso, a enzima transcriptase reversa sintetiza uma molécula de DNA a partir do RNA molde, e a seguir o DNA é amplificado.

Observe que a PCR só pode ser usada para amplificar sequências de DNA relativamente pequenas, como determinado pela escolha dos *primers*; não pode ser utilizada para amplificar um genoma inteiro.

A PCR pode ser utilizada em qualquer situação que requeira a amplificação do DNA. A técnica atualmente é uma importante ferramenta para o diagnóstico de agentes infecciosos, podendo ser utilizada especialmente em situações onde tais agentes não são detectados por outras técnicas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Qual a importância dos seguintes itens na PCR: *primer*, DNA-polimerase, 94ºC? **9-7**

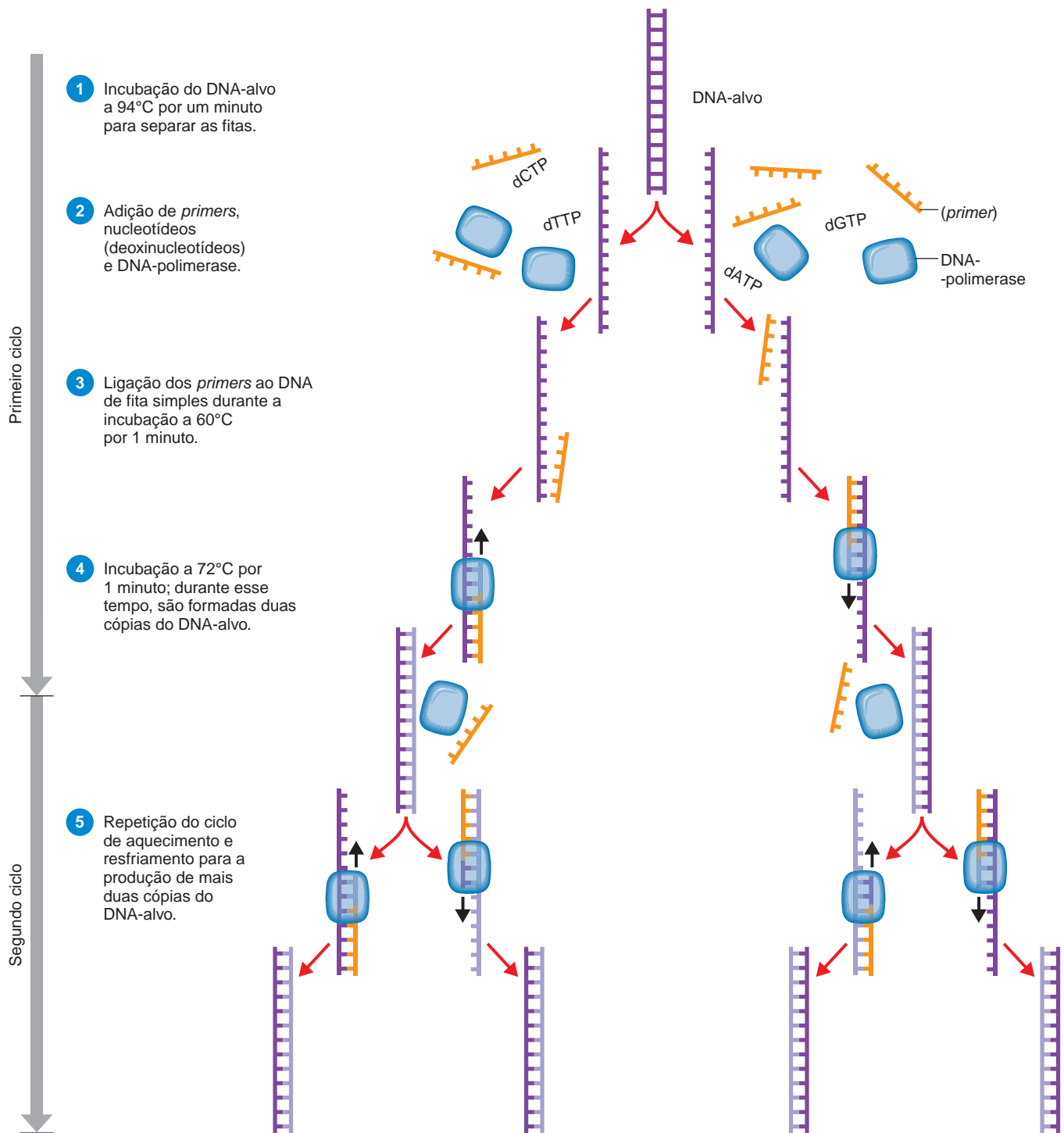



Figura 9.4 **A reação em cadeia da polimerase.**

P Que enzima promove a síntese de DNA na PCR?

Técnicas de engenharia genética

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

9-8 Descrever cinco maneiras de introduzir DNA em uma célula.

9-9 Descrever como uma biblioteca de genes é feita.

9-10 Diferenciar cDNA de DNA sintético.

9-11 Explicar como cada um dos itens a seguir é utilizado para se obter um clone: gene de resistência a antibióticos, sonda de DNA, produtos gênicos.

9-12 Listar uma vantagem na utilização de cada um dos seguintes sistemas na engenharia genética: *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, células de mamíferos, células de plantas.

Inserção de DNA exógeno nas células

Os métodos para a produção de rDNA exigem que as moléculas de DNA sejam manipuladas fora da célula e depois reintroduzidas em células vivas. Existem várias maneiras de se introduzir DNA em células. O método de escolha geralmente é determinado pelo tipo de vetor e de célula hospedeira que está sendo utilizado.

Na natureza, os plasmídeos geralmente são transferidos entre micróbios de parentesco próximo por contato célula-célula, como na conjugação. Na engenharia genética, um plasmídeo deve ser inserido em uma célula por **transformação**, um processo durante o qual as células podem captar DNA do ambiente circundante (veja o Capítulo 8, página 234). Muitos tipos celulares, incluindo células de *E. coli*, de levedura ou de mamíferos, não são transformados naturalmente; entretanto, tratamentos químicos simples podem tornar esses tipos celulares *competentes*, ou seja, capazes de captar DNA externo. Para *E. coli*, o procedimento para produzir células competentes é a incubação celular em uma solução de cloreto de cálcio por um período breve. Após esse tratamento, as células, já competentes, são misturadas com o DNA clonado e submetidas a um choque térmico moderado. Algumas dessas células irão captar o DNA.

Existem outros meios para transferir DNA para o interior das células. Um processo chamado de **eletroporação** utiliza uma corrente elétrica para formar poros microscópicos nas membranas celulares; o DNA entra nas células através desses poros. A eletroporação geralmente é aplicável a todas as células; aquelas com paredes celulares muitas vezes devem ser convertidas primeiro em protoplastos (veja o Capítulo 4, página 88). Os **protoplastos** são produzidos pela remoção enzimática da parede celular, permitindo assim um acesso mais direto à membrana plasmática.

O processo de **fusão** também tira vantagem das propriedades dos protoplastos. Os protoplastos em solução se fundem com uma frequência baixa, mas significante; a adição de polietileno-glicol aumenta a frequência de fusão (**Figura 9.5a**). Na nova célula híbrida, o DNA derivado das duas células “parentais” pode sofrer recombinação natural. Esse método é especialmente importante para a manipulação genética de células vegetais e de algas (**Figura 9.5b**).

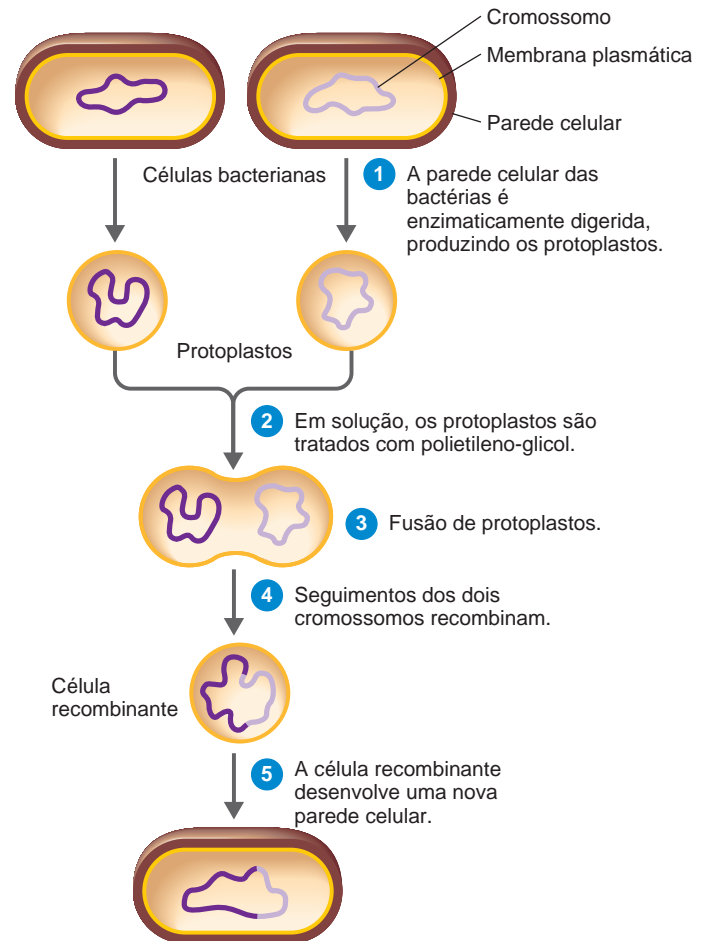
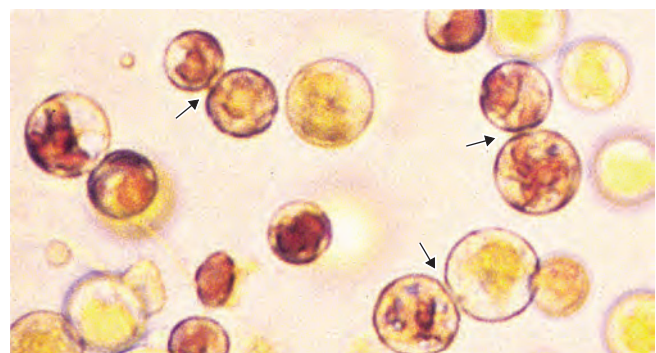
Um método excelente para a introdução de DNA exógeno em células vegetais é, literalmente, o disparo direto do DNA por meio das espessas paredes de celulose utilizando uma pistola de genes (**Figura 9.6**). As partículas microscópicas de tungstênio ou ouro são cobertas com DNA e arremessadas pelas paredes de células vegetais por uma explosão de hélio. Algumas das células expressam o DNA introduzido como se fosse delas próprias.

(a) Processo de fusão de protoplastos.

(b) Fusão de protoplastos de células de algas.

Figura 9.5 **Fusão de protoplastos.** **(a)** Um diagrama de uma fusão de protoplastos com células bacterianas. **(b)** Fusão de protoplastos de células de algas. A remoção da parede celular deixa apenas a delicada membrana plasmática envolvendo o conteúdo da célula, o que permite a troca de DNA.

P **O que é um protoplasto?**

Figura 9.6 Uma pistola de genes, que pode ser usada para inserir "projéteis" revestidos de DNA em uma célula.

P Cite outros quatro métodos de inserir DNA em uma célula.

Figura 9.7 A microinjeção de DNA exógeno em um óvulo fecundado de camundongo. Inicialmente, o óvulo é imobilizado com o auxílio de uma pipeta de extremidade rombuda, aplicando uma leve sucção (à direita). Várias centenas de cópias do gene de interesse são então injetadas no núcleo da célula, por meio de uma micropipeta de extremidade minúscula (à esquerda).

P Por que a microinjeção não é possível em células bacterianas e fúngicas?

O DNA pode ser introduzido diretamente em uma célula animal por **microinjeção**. Essa técnica requer o uso de uma micropipeta de vidro com o diâmetro muito menor que a célula. A micropipeta perfura a membrana plasmática e o DNA pode ser introduzido através dela (**Figura 9.7**).

Existe, portanto, uma grande variedade de enzimas de restrição, vetores e métodos para a introdução de DNA em células. Entretanto, o DNA exógeno sobreviverá somente se estiver presente em um vetor autorreplicativo ou se for incorporado em um dos cromossomos da célula por recombinação.

Obtenção do DNA

Vimos como os genes podem ser clonados em vetores com a utilização de enzimas de restrição e como eles podem ser transformados ou transferidos para vários tipos celulares. Mas como os engenheiros genéticos obtêm os genes em que estão interessados? Existem duas fontes principais: (1) bibliotecas de genes contendo cópias naturais ou cópias de cDNA dos genes produzidos a partir do mRNA e (2) DNA sintético.

Bibliotecas de genes

O isolamento de genes específicos na forma de fragmentos individuais de DNA quase nunca é um processo prático. Por isso, os pesquisadores interessados em genes de um determinado organismo começam pela extração do DNA do organismo, que pode ser obtido de células de planta, animal ou micróbio, através da lise celular e da precipitação do DNA. Esse processo resulta em uma "massa" de DNA que inclui o genoma completo do organismo.

Após o DNA ser digerido pelas enzimas de restrição, os fragmentos de restrição são ligados em vetores plasmidiais ou fágicos, e os vetores recombinantes são introduzidos na célula bacteriana. O objetivo é produzir uma coleção de clones grande o suficiente para assegurar a existência de pelo menos um clone para cada gene do organismo. Essa coleção de clones contendo diferentes fragmentos de DNA é chamada de **biblioteca de genes**; cada "livro" é uma linhagem bacteriana ou de fago que contém um fragmento do genoma (**Figura 9.8**). Essas bibliotecas são essenciais para a manutenção e a recuperação de clones; elas podem até mesmo ser adquiridas comercialmente.

A clonagem de genes de organismos eucarióticos apresenta um problema específico. Os genes de células eucarióticas geralmente contêm **éxons,** seguimentos de DNA que codificam proteínas, e **íntrons**, segmentos intergênicos de DNA que não codificam proteínas. Quando o RNA transcrito de um gene como este é convertido em mRNA, os íntrons são removidos (veja a Figura 8.11, página 222). Na clonagem de genes de células eucarióticas, é desejável a utilização de versões dos genes que não possuam íntrons. Isso é necessário porque um gene que inclui íntrons pode ser grande demais para permitir que se trabalhe com ele facilmente. Além disso, se esse gene for colocado em uma célula bacteriana, a bactéria normalmente não será capaz de remover os íntrons do RNA transcrito e, por isso, não será capaz de produzir o produto proteico correto. Entretanto, um gene artificial que contenha apenas éxons pode ser produzido com a utilização de uma enzima chamada de **transcriptase reversa**, que sintetiza **DNA complementar (cDNA)** a partir de um molde de mRNA (**Figura 9.9**). Essa síntese é o inverso do processo de transcrição normal, de DNA para RNA. Uma cópia de DNA é produzida a partir do mRNA pela transcriptase reversa.

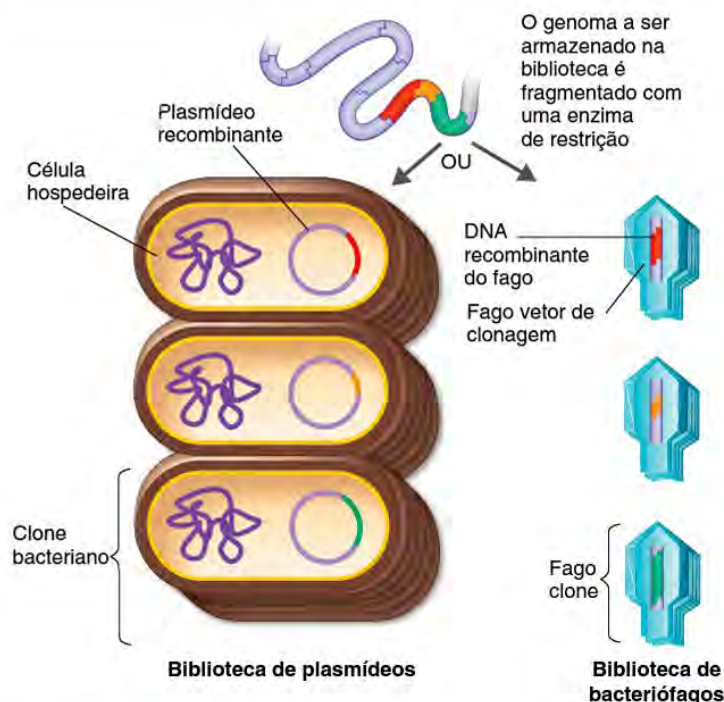



Figura 9.8 **Bibliotecas de genes.** Cada fragmento de DNA, contendo um gene, é carregado por um vetor, que pode ser um plasmídeo no interior de uma célula bacteriana ou um fago.

P **Diferencie uma RFLP de um gene.**

Figura 9.9 **Produzindo DNA complementar (cDNA) para um gene eucariótico.** A transcriptase reversa catalisa a síntese de DNA de filamento duplo a partir de um molde de RNA.

P **Qual a diferença entre transcriptase reversa e DNA-polimerase?**

A seguir, o RNA é eliminado por digestão enzimática. A DNA-polimerase sintetiza, então, uma fita de DNA complementar, criando um fragmento de DNA de fita dupla que contém a informação do mRNA. As moléculas de cDNA produzidas a partir de uma mistura de todos os mRNAs de um tecido ou tipo celular podem então ser clonadas para formar uma biblioteca de cDNA.

O método do cDNA é o mais comum para a obtenção de genes eucarióticos. Uma das dificuldades deste método é que moléculas de mRNA mais longas podem não ter uma transcrição reversa em DNA completa; a transcrição reversa muitas vezes é abortada, formando apenas partes do gene desejado.

DNA sintético

Em determinadas circunstâncias, os genes podem ser produzidos *in vitro*, com o auxílio de máquinas de síntese de DNA (**Figura 9.10**). Um teclado da máquina é utilizado para a entrada da sequência de nucleotídeos desejada, de maneira similar à entrada de letras em um processador de textos para a composição de uma frase. Um microprocessador controla a síntese do DNA a partir do suprimento de nucleotídeos armazenados e dos demais reagentes necessários. Cadeias de mais de 120 nucleotídeos podem ser sintetizadas por este método. A não ser que o gene seja muito pequeno, várias cadeias devem ser sintetizadas separadamente e unidas para formar a sua sequência completa.

Obviamente, a dificuldade dessa abordagem é que a sequência do gene deve ser conhecida antes de ser sintetizada. Se o gene ainda não foi isolado, a única maneira de prever a sequência do DNA é a partir da sequência de aminoácidos do seu produto proteico. Se essa sequência de aminoácidos é conhecida, pode-se, em princípio, voltar-se no código genético para se obter a sequência do DNA. Infelizmente, a degeneração do código genético impede uma determinação livre de ambiguidades; assim, se a proteína contém uma leucina, por exemplo, qual dos seis códons existentes para esse aminoácido estaria presente no gene?

Por essas razões é rara a clonagem de um gene a partir da síntese direta, embora alguns produtos comerciais, como a insulina, o interferon e a somatostatina, sejam produzidos a partir de genes sintetizados quimicamente. Sítios de restrição desejados foram acrescentados aos genes sintéticos; então, os genes poderiam ser inseridos nos vetores plasmidiais para a clonagem em *E. coli*. O DNA sintético tem um papel muito mais importante em processos de seleção, como veremos a seguir.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Contraste as cinco maneiras de introduzir DNA dentro de uma célula. **9-8**

✓ Qual é a proposta de uma biblioteca de genes? **9-9**

✓ Por que não existe cDNA sintético? **9-10**

Figura 9.10 **Uma máquina de síntese de DNA.** Sequências curtas de DNA podem ser sintetizadas por aparelhos como este.

P **Quais são algumas desvantagens de uma máquina de síntese de DNA?**

Selecionando um clone

Na clonagem, é necessário selecionar aquela célula que contenha o gene de interesse específico. Isso é difícil, pois, dentre milhões de células, apenas algumas poucas podem conter o gene desejado. Analisaremos um processo típico conhecido como *seleção branca-azul*, nome derivado da cor das colônias bacterianas formadas no final do processo de seleção.

O vetor plasmidial contém um gene (*amp*^{R}), que codifica resistência ao antibiótico ampicilina. A bactéria hospedeira não será capaz de multiplicar-se no meio de teste, que contém ampicilina, a não ser que o vetor tenha transferido o gene de resistência ao antibiótico. O vetor plasmidial também contém um segundo gene, que codifica a enzima β-galactosidase (*lacZ*). Observe na Figura 9.3 que existem diversos sítios de *lacZ* que podem ser clivados pelas enzimas de restrição.

O procedimento é mostrado na **Figura 9.11**. Os dois genes, chamados de genes marcadores, são utilizados para que a introdução do DNA plasmidial na bactéria hospedeira possa ser determinada. No processo de seleção branca-azul, uma biblioteca de bactérias é cultivada em um meio denominado X-gal. O meio X-gal contém, além daqueles elementos necessários para o crescimento bacteriano normal, outros dois elementos essenciais. Um é o antibiótico ampicilina, que impede a multiplicação de qualquer bactéria que não tenha recebido o gene de resistência à ampicilina do plasmídeo. O outro, chamado de X-gal, é um substrato para a β-galactosidase.

Somente as bactérias que tenham assimilado o plasmídeo irão se multiplicar – porque elas agora são resistentes à ampicilina. As bactérias que assimilaram o plasmídeo recombinante – no qual o novo gene foi inserido no gene *lacZ* – não irão hidrolisar a lactose e produzirão colônias brancas. Se a bactéria recebeu o plasmídeo original contendo o gene *lacZ* intacto, as células irão hidrolisar X-gal para produzir um composto azul; a colônia será azul.

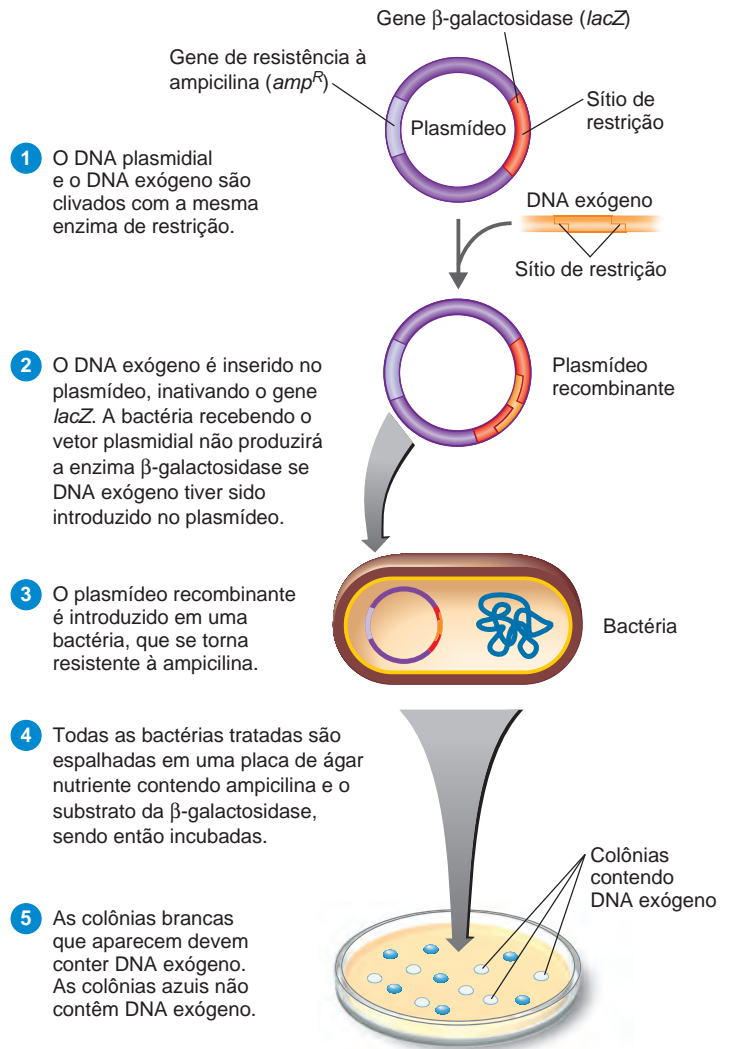
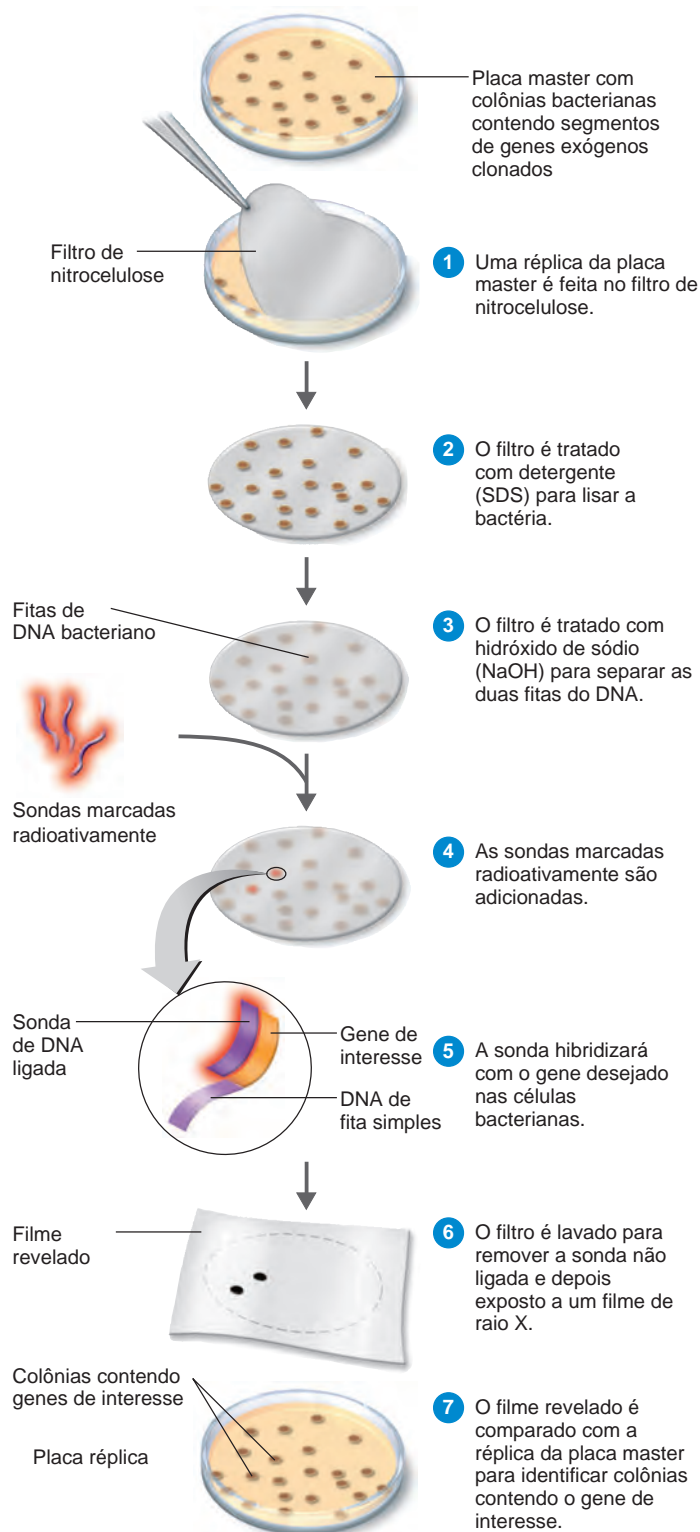



Figura 9.11 **Seleção branca-azul, um método de seleção de bactérias recombinantes.**

P **Por que algumas colônias são azuis e outras brancas?**

O que resta para ser feito pode ainda ser difícil. O processo selecionou colônias brancas que sabidamente contêm DNA exógeno, mas ainda não se sabe se o DNA exógeno é o fragmento desejado. É necessário um segundo processo para identificar essas bactérias. Se o DNA exógeno no plasmídeo codifica um produto identificável, é necessário apenas multiplicar o isolado bacteriano em cultura e testá-lo. Entretanto, em alguns casos, o próprio gene deve ser identificado na bactéria hospedeira.

A **hibridização de colônias** é o método comum para a identificação de células portadoras de um gene clonado específico. Nesse método, devem ser sintetizadas **sondas de DNA**, que são segmentos curtos de DNA de fita simples complementares ao gene desejado. Se uma sonda de DNA encontrar uma sequência complementar, ela irá aderir ao gene-alvo. A sonda de DNA é marcada com um elemento radioativo ou um corante fluorescente para que sua presença possa ser determinada. A **Figura 9.12**

esquematiza um típico experimento de hibridização de colônias. Um arranjo de sonda de DNA posicionadas em um chip pode ser usado para identificar patógenos (veja a Figura 10.17, página 293).

Fazendo um produto gênico

P&R Acabamos de ver como identificar células que carregam um determinado gene. Os produtos gênicos são, muitas vezes, o objetivo da engenharia genética. A maioria dos trabalhos iniciais com engenharia genética utilizou *E. coli* para sintetizar produtos gênicos. A *E. coli* é facilmente cultivada e a sua genética é bastante conhecida pelos pesquisadores. Por exemplo, alguns promotores passíveis de indução, como o do operon *lac*, foram clonados, o que permite que genes também clonados sejam ligados a eles. A síntese de grandes quantidades do produto do gene clonado pode então ser determinada pela adição de um indutor. Esse método foi utilizado para produzir interferon gama em *E. coli* (**Figura 9.13**). Entretanto, *E. coli* apresenta várias desvantagens. Como outras bactérias gram-negativas, ela produz endotoxinas como parte da camada externa da sua parede celular. Como essas endotoxinas causam febre e choque em animais, a presença acidental delas em produtos destinados ao consumo humano seria um problema grave.

Outra desvantagem da *E. coli* é que ela geralmente não secreta produtos proteicos. Para a obtenção de um produto, as células devem ser rompidas e a proteína em questão deve ser purificada da "sopa" de componentes celulares resultantes. A recuperação de um produto de uma mistura como essa é cara quando feita em escala industrial. É mais econômico utilizar um organismo que secreta o produto, de modo que ele possa ser continuamente recuperado do

Placa master com colônias bacterianas contendo segmentos de genes exógenos clonados

Filtro de nitrocelulose

1 Uma réplica da placa master é feita no filtro de nitrocelulose.

2 O filtro é tratado com detergente (SDS) para lisar a bactéria.

Fitas de DNA bacteriano

3 O filtro é tratado com hidróxido de sódio (NaOH) para separar as duas fitas do DNA.

Sondas marcadas radioativamente

4 As sondas marcadas radioativamente são adicionadas.

Sonda de DNA ligada

Gene de interesse

DNA de fita simples

5 A sonda hibridizará com o gene desejado nas células bacterianas.

Filme revelado

6 O filtro é lavado para remover a sonda não ligada e depois exposto a um filme de raio X.

Colônias contendo genes de interesse

Placa réplica

7 O filme revelado é comparado com a réplica da placa master para identificar colônias contendo o gene de interesse.

Figura 9.12 Hibridização de colônias: utilizando uma sonda de DNA para identificar uma gene de interesse clonado.

P O que é uma sonda de DNA?

Figura 9.13 *E. coli* geneticamente modificada para produzir interferon gama, uma proteína humana que promove uma resposta imune. O produto, visível aqui como uma substância de cor alaranjada, pode ser liberado pela lise da célula.

P Cite uma vantagem e uma desvantagem da utilização de *E. coli* em engenharia genética.

meio de cultivo. Uma opção é a ligação do produto a uma proteína de *E. coli* naturalmente secretada pela bactéria. Porém, as bactérias gram-positivas, como *Bacillus subtilis*, têm uma probabilidade maior de secretar seus produtos e, por isso, com frequência são preferidas para utilização industrial.

Outro micróbio que vem sendo utilizado como veículo para expressar os genes modificados por engenharia genética é o fermento de pão, *Saccharomyces cerevisiae*. O seu genoma é cerca de quatro vezes maior que o de *E. coli* e provavelmente seja o genoma eucariótico mais bem conhecido. Os fermentos, ou leveduras, podem carregar plasmídeos, que são facilmente transferidos para células de leveduras depois que elas tiverem suas paredes celulares removidas. Como células eucarióticas, as leveduras podem ter mais sucesso na expressão de genes eucarióticos exógenos. Além disso, as leveduras têm uma probabilidade maior de secretarem continuamente o produto. Devido a todos esses fatores, as leveduras tornaram-se os organismos eucarióticos de escolha na biotecnologia.

As células de mamíferos em cultura, inclusive as humanas, podem, assim como as bactérias, ser utilizadas em engenharia genética para a produção de proteínas. Os cientistas desenvolveram métodos eficientes para a manutenção de certas células de mamíferos em cultura como hospedeiras para a multiplicação de vírus (veja o Capítulo 13, página 378). Na engenharia genética, as células de mamíferos geralmente são as mais adequadas para a produção de proteínas de uso médico; dentre essas proteínas estão os hormônios, as citocinas (que regulam as células do sistema imune) e o interferon (uma substância antiviral natural, também utilizada no tratamento de alguns tipos de câncer). A utilização de células de mamíferos para a obtenção de produtos de genes exógenos em uma escala industrial frequentemente exige uma etapa preliminar, a clonagem do gene em uma bactéria. Considere o exemplo do fator estimulador de colônia (CSF, de *colony-stimulating factor*). O CSF é uma proteína produzida naturalmente em quantidades reduzidas pelos glóbulos brancos do sangue. Ele é valioso porque estimula a multiplicação de certas células que protegem contra infecções. Para a produção industrial de grandes quantidades de CSF, o gene é primeiramente inserido em um plasmídeo, que, posteriormente é multiplicado em bactérias (veja a Figura 9.1). Os plasmídeos recombinantes são inseridos em células de mamíferos, que são multiplicadas em frascos.

As células vegetais também podem ser multiplicadas em cultura, alteradas por técnicas de DNA recombinante e então produzidas para gerar plantas modificadas por engenharia genética. Essas plantas podem ser úteis como fontes de produtos valiosos, como os alcaloides vegetais (o anestésico codeína, por exemplo), os isoprenoides que são a base da borracha sintética e a melanina (o pigmento da pele animal) para a utilização em filtros solares. Plantas geneticamente modificadas apresentam muitas vantagens para a produção de agentes terapêuticos humanos, incluindo vacinas e anticorpos. As vantagens desse sistema incluem produção em larga escala e de baixo custo utilizando a agricultura, além de baixo risco de contaminação do produto de interesse por patógenos de mamíferos ou por genes causadores de câncer. O desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas com frequência requer o uso de uma bactéria. Retornaremos ao tópico de plantas geneticamente modificadas neste capítulo (página 264).

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como clones recombinantes são identificados? **9-11**
- ✓ Que tipos de células são utilizados para clonagem em engenharia genética ? **9-12**

Aplicações da engenharia genética

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

9-13 Listar pelo menos cinco aplicações da engenharia genética.

9-14 Definir RNAi.

9-15 Discutir o valor do Projeto Genoma Humano.

9-16 Definir os seguintes termos: sequenciamento aleatório por *shotgun*, bioinformática, proteômica.

9-17 Esquematizar a metodologia do *Southern blotting* e fornecer uma aplicação desta técnica.

9-18 Esquematizar a metodologia do *fingerprinting* de DNA e fornecer uma aplicação desta técnica.

9-19 Esquematizar a engenharia genética com *Agrobacterium*.

Descrevemos a sequência completa de eventos na clonagem de um gene. Como indicado anteriormente, esses genes clonados podem ser utilizados de diferentes maneiras. Uma delas é na produção de substâncias benéficas de modo mais eficiente e mais barato (veja o quadro no Capítulo 1, página 3). Uma outra é na obtenção de informação do DNA clonado, que é útil para pesquisa básica ou para aplicações médicas. Uma terceira é a utilização de genes clonados para a alteração de características de células ou organismos. O quadro no Capítulo 27 (página 780) descreve o uso de células recombinantes para a detecção de poluentes.

Aplicações terapêuticas

O hormônio insulina, uma pequena proteína produzida pelo pâncreas que controla a absorção de glicose do sangue, é um produto farmacêutico extremamente valioso. Por muito anos, diabéticos dependentes de insulina controlavam sua enfermidade com injeções de insulina obtida de pâncreas de animais abatidos. A obtenção deste hormônio é um processo caro e, além disso, a insulina de animais não é tão eficaz quanto a humana.

Devido ao valor da insulina humana e ao seu pequeno tamanho, a produção desta proteína por técnicas de DNA recombinante foi um dos primeiros objetivos da indústria farmacêutica. Para a produção do hormônio, foram inicialmente construídos genes sintéticos para cada uma das duas cadeias polipeptídicas que constituem a molécula de insulina. O pequeno tamanho dessas cadeias – com apenas 21 ou 30 aminoácidos de extensão – tornou possível o uso de genes sintéticos. Seguindo o procedimento descrito anteriormente, cada um dos genes sintéticos foi inserido em um vetor plasmidial e ligado à extremidade de um gene codificando a enzima β-galactosidase, de modo que o polipeptídeo da insulina era coproduzido com ela. Foram utilizadas duas culturas bacterianas de *E. coli*, cada uma produzindo uma das cadeias polipeptídicas da insulina. Os polipeptídeos eram então recuperados da bactéria, separados da β-galactosidase e unidos quimicamente para produzir a insulina humana. Esse foi um dos primeiros sucessos comerciais

da engenharia genética e ilustra vários dos princípios discutidos neste capítulo.

Outro hormônio humano que agora está sendo produzido comercialmente por meio de manipulação genética da *E. coli* é a somatostatina. Já houve uma época que eram necessários 500 mil cérebros de ovelha para a produção de 5 mg de somatostatina animal para utilização experimental. Em contraste, apenas 8 L de uma cultura de bactérias modificadas por engenharia genética são necessários agora para a obtenção de uma quantidade equivalente do hormônio humano.

As **vacinas de subunidades**, que consistem apenas de parte de uma proteína de um patógeno, estão sendo produzidas por leveduras modificadas por engenharia genética. As vacinas de subunidades têm sido produzidas contra várias doenças, inclusive a hepatite B. Uma das vantagens de uma vacina de subunidades é a inexistência de risco de infecção durante a vacinação. A proteína é obtida de células modificadas por engenharia genética e purificada para a utilização como vacina. Vírus animais, como o vírus vaccínia, podem ser modificados para carregar um gene da proteína de superfície de outro micróbio. Quando injetado, o vírus age como vacina contra esse outro micro-organismo.

Vacinas de DNA geralmente são plasmídeos circulares que possuem um gene codificador de uma proteína viral sob o controle transcricional de uma região promotora, passível de ativação em células humanas. Esses plasmídeos são clonados em bactérias. Vários testes de vacinas contra HIV, SARS, influenza e malária estão em fase de teste. Um tópico sobre vacinas é discutido no Capítulo 18 (página 501). A **Tabela 9.2** lista outros importantes produtos obtidos por engenharia genética aplicados na terapia médica.

A **terapia gênica** pode acabar determinando a cura de algumas doenças genéticas. Já é possível imaginar a remoção de algumas células de um indivíduo e a transformação delas com um gene normal, de modo a substituir um gene defeituoso ou mutado. Quando essas células fossem devolvidas ao indivíduo, elas poderiam funcionar normalmente. Por exemplo, a terapia gênica tem sido usada no tratamento da hemofilia B e de imunodeficiências severas combinadas. Os adenovírus e os retrovírus são utilizados com mais frequência para distribuir os genes. Entretanto, alguns pesquisadores estão trabalhando com vetores plasmidiais. O primeiro tratamento com terapia gênica usado para tratar hemofilia em seres humanos foi feito em 1999. Um retrovírus atenuado foi utilizado como vetor. Diversos experimentos com terapia gênica estão sendo realizados, usando adenovírus manipulado geneticamente carregando o gene humano *p53* para tratar alguns tipos de câncer. O gene *p53*, que codifica uma proteína que reprime tumores, é o gene que sofre mutações com maior frequência nas células cancerosas.

O número de experimentos com terapia gênica irá aumentar à medida que os avanços tecnológicos acontecerem e as tentativas iniciais obtiverem sucesso. No entanto, uma grande quantidade de estudos preliminares ainda precisa ser feita, sendo possível que não se encontre a cura para todas as doenças genéticas. A inserção de DNA antissenso (veja a página 267) nas células também está sendo explorada no tratamento de hepatite, de formas de câncer e de um tipo de doença de artéria coronária.

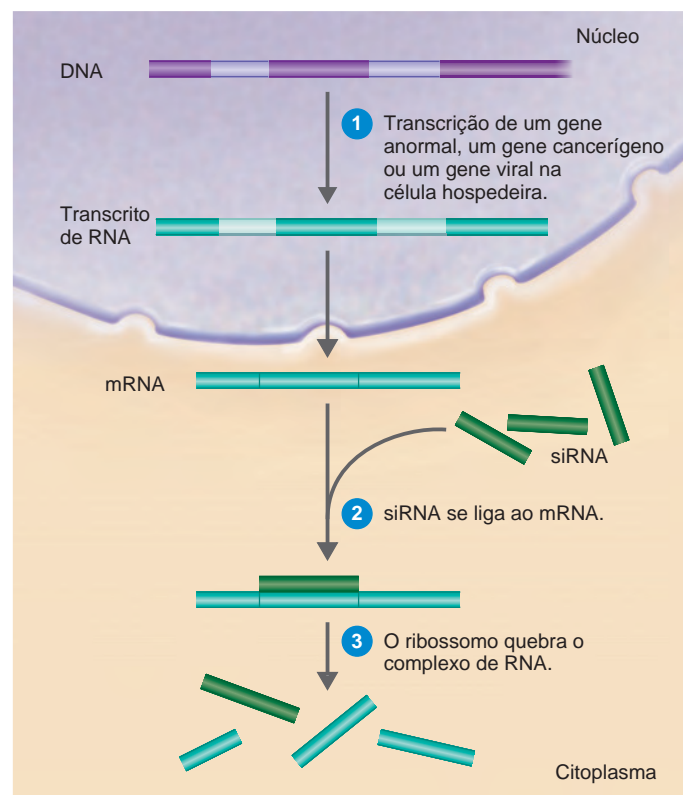



Figura 9.14 **O silenciamento gênico poderia fornecer o tratamento de diversas doenças.**

P **O RNAi atua durante ou após a transcrição?**

O **silenciamento gênico** é um processo natural que ocorre na maioria dos organismos e aparentemente representa uma defesa contra vírus e transposons. Uma nova tecnologia, chamada de **RNA interferente (RNAi)**, vem se mostrando promissora para a terapia gênica, no tratamento de cânceres e de infecções virais. RNAs de fita dupla, denominados **pequenos RNAs de interferência (siRNAs,** de *small interfering RNAs*), podem ser introduzidos em uma célula (**Figura 9.14**) e direcionados a um gene em particular, como um gene viral, por exemplo. As moléculas de siRNA se ligam ao mRNA, causando sua destruição enzimática, o que *silencia* a expressão de um gene. Em camundongos, a tecnologia do RNAi tem mostrado uma inibição do vírus da hepatite B. As moléculas de siRNA podem ser injetadas diretamente dentro de uma célula ou previamente introduzidas em um vetor de DNA. No segundo caso, um pequeno inserto de DNA, codificador de um siRNA contra um gene de interesse, é clonado dentro de um plasmídeo; quando o vetor com o inserto for transferido para dentro de uma célula, acontecerá a produção do siRNA desejado.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Explique como a engenharia genética pode ser usada para o tratamento e a prevenção de doenças. **9-13**
- ✓ O que é silenciamento gênico? **9-14**

Tabela 9.2 Alguns produtos farmacêuticos da engenharia genética

Produto	Comentários
Antitripsina	Auxilia pacientes com enfisema; produzida por ovelhas geneticamente alteradas.
Proteínas morfogenéticas ósseas	Induzem a formação de novos ossos; úteis na cura de fraturas e em cirurgias de reconstrução; produzidas em cultura de células de mamíferos.
Vacina contra o câncer cervical	Consiste em proteínas virais produzidas em *S. cerevisiae*.
Fator estimulador de colônia (CSF)	Contrapõe efeitos de quimioterapia; melhora a resistência contra doenças infecciosas como a Aids; tratamento de leucemia; produzido por *E. coli* e *S. cerevisiae*.
Fator de crescimento epidérmico (EGF)	Cura ferimentos, queimadura e úlceras; produzido por *E. coli*.
Eritropoetina (EPO)	Tratamento de anemia; produzida em cultura de células de mamíferos.
Fator VII	Tratamento de acidentes vasculares; produzido em cultura de células de mamíferos.
Fator VIII	Tratamento de hemofilia; melhora a coagulação; produzido em cultura de células de mamíferos.
Interferon	
IFN-α	Terapia para leucemia, melanoma e hepatite; produzido por *E. coli* e *S. cerevisiae*.
IFN-β	Tratamento de esclerose múltipla; produzido em cultura de células de mamíferos.
IFN-γ	Tratamento de inflamações granulomatosas crônicas; produzido por *E. coli*.
Vacina contra a hepatite B	Produzida por *S. cerevisiae* que carrega um gene do vírus da hepatite em um plasmídeo.
Hormônio do crescimento humano (hGH)	Corrige deficiências do crescimento em crianças; produzido por *E. coli*.
Insulina humana	Tratamento do diabetes; melhor tolerada que a insulina extraída de animais; produzida por *E. coli*.
Vacina contra a gripe	Vacina experimental produzida por *E. coli* ou *S. cerevisiae* carregando os genes do vírus.
Interleucinas	Regulam o sistema imune; possível tratamento para câncer; produzidas por *E. coli*.
Anticorpos monoclonais	Possível tratamento para câncer e rejeição de transplantes; utilizados em testes diagnósticos; produzidos por cultura de células de mamíferos (a partir da fusão de uma célula cancerosa com uma célula produtora de anticorpos).
Ortoclone (OKT3)	Anticorpo monoclonal utilizado em pacientes submetidos a transplante, para auxiliar na supressão do sistema imune, reduzindo a chance de rejeição do tecido transplantado; produzido por células de camundongos.
Pró-uroquinase	Anticoagulante; tratamento de ataques cardíacos; produzido por *E. coli* e levedura.
Pulmozina (rhDNAse)	Enzima utilizada na degradação de secreções mucosas em pacientes com fibrose cística; produzida em cultura de células de mamíferos.
Relaxina	Utilizada para facilitar o parto; produzida em *E. coli*.
Superóxido-dismutase (SOD)	Minimiza os danos causados por radicais de oxigênio livres quando o sangue é fornecido novamente a tecidos privados de oxigênio; produzida por *S. cerevisiae* e *Komagataella pastoris* (levedura).
Taxol	Produto vegetal utilizado no tratamento do câncer de ovário; produzido por *E. coli*.
Ativador do plasminogênio tissular (activase)	Dissolve a fibrina de coágulos sanguíneos; terapia de ataques cardíacos; produzido em cultura de células de mamíferos.
Fator de necrose tumoral (TNF)	Causa a desintegração de células tumorais; produzido por *E. coli*.

O Projeto Genoma Humano

O Projeto Genoma Humano, um projeto internacional que durou 13 anos, iniciado oficialmente em 1990 e finalizado em 2003, envolve muitas das novas tecnologias disponíveis. O objetivo desse projeto foi sequenciar o genoma humano completo, o que corresponde a aproximadamente 3 bilhões de pares de nucleotídeos, compreendendo entre 20 e 25 mil genes. Milhares de pessoas em 18 países participaram desse projeto. Os pesquisadores coletaram amostras de sangue (mulheres) ou de esperma (homens) de um grande número de doadores. Somente algumas amostras foram processadas como fontes de DNA, e os nomes dos doadores foram protegidos. Dessa forma, nem os próprios doadores nem os cientistas sabem quais amostras foram usadas. O desenvolvimento do sequenciamento *shotgun* (brevemente discutido) acelerou bastante o processo, e o genoma está quase completamente sequenciado.

Uma surpresa encontrada foi que menos de 2% do genoma humano codificam produtos funcionais – os outros 98% estão sendo chamados de "DNA lixo", onde estão incluídos íntrons, as extremidades dos cromossomos (chamados de *telômeros*) e os transposons (sequências repetitivas que constituem mais da metade do genoma humano; veja o Capítulo 8, página 240). No momento, os cientistas estão mapeando genes específicos e determinando suas funções.

O próximo objetivo dos pesquisadores é o Projeto Proteoma Humano, no qual irão mapear todas as proteínas expressas pelas células humanas. No entanto, antes mesmo de ficar pronto, o projeto fornecerá dados de grande importância para a nossa compreensão da Biologia. Ele também será muito importante para a medicina, especialmente no diagnóstico e no tratamento de doenças genéticas.

Aplicações científicas

A tecnologia do DNA recombinante pode ser utilizada na obtenção de produtos, mas essa não é a única aplicação importante. Graças à sua capacidade de produzir muitas cópias de DNA, ela pode funcionar como uma espécie de "gráfica para imprimir DNA". Após uma grande quantidade de um determinado segmento de DNA estar disponível, várias técnicas analíticas, discutidas nesta seção, podem ser utilizadas na "leitura" da informação contida no DNA.

Que tipo de informação pode ser obtido a partir do DNA clonado? Um tipo de informação é obtido através do processo de **sequenciamento de DNA** – a determinação da sequência exata de bases nucleotídicas no DNA.

Uma técnica de sequenciamento do genoma é o **sequenciamento aleatório por *shotgun***. Pequenos fragmentos de um genoma são sequenciados, e as sequências são então montadas com o uso de um computador. Quaisquer lacunas entre os fragmentos precisam ser encontradas e sequenciadas (**Figura 9.15**). As sequências para os genomas virais completos agora são relativamente fáceis de obter. Os genomas da levedura *S. cerevisiae*, da *E. coli* e de mais outros 70 micróbios foram mapeados; outros 100 estão em progresso. O Projeto Genoma Humano foi um empreendimento massivo resultando no sequenciamento do genoma humano. Os mapas divulgados estão entre 70 e 99% completos, com algumas lacunas ainda a serem preenchidas. A maioria das lacunas são sequências repetidas que não codificam nenhum gene. Por exemplo, para completar o genoma de *S. cerevisiae* faltam somente 7%, mas as regiões codificadoras de genes estão 100% completas. Programas computacionais podem ser usados para procurar regiões codificadoras de proteínas, que podem então ser "traduzidas" por outros programas.

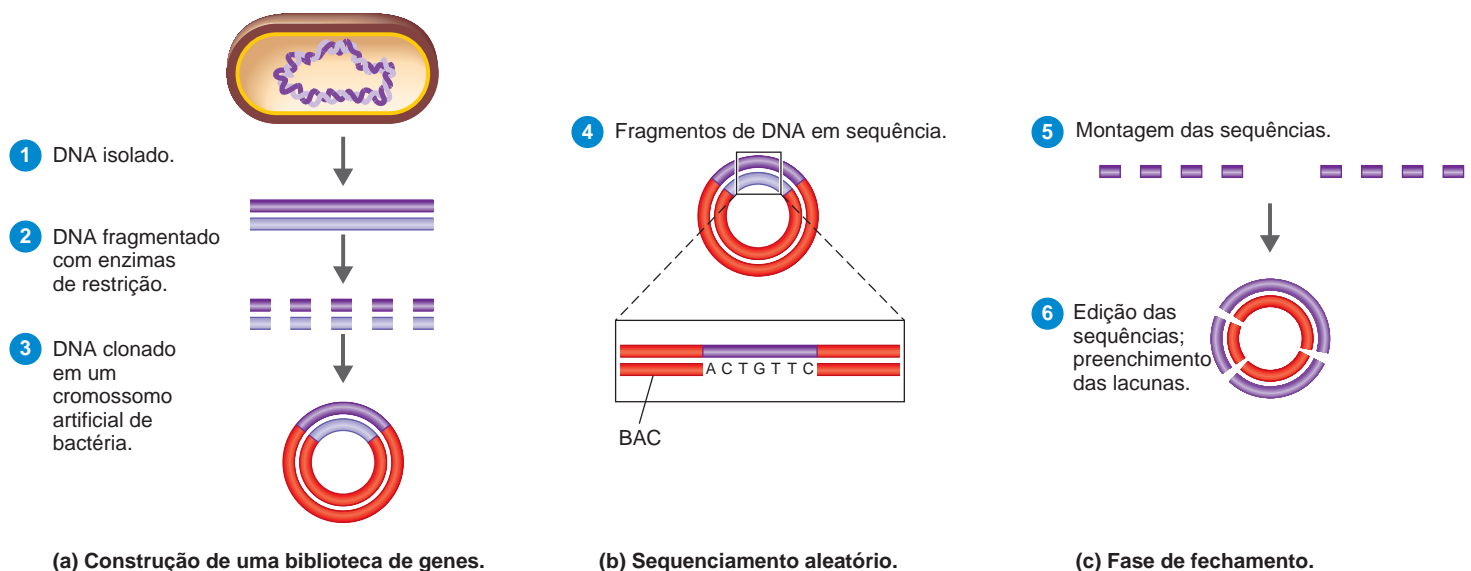



Figura 9.15 **Sequenciamento aleatório por *shotgun*.** Nessa técnica, um genoma é partido em fragmentos, e cada fragmento é sequenciado; depois, os fragmentos são encaixados. Pode haver algumas lacunas se um fragmento específico de DNA não tiver sido sequenciado.

P **Esta técnica identifica genes e suas localizações?**

O sequenciamento de DNA produziu uma quantidade enorme de informações que acabou gerando o novo campo da **bioinformática**, a ciência que busca entender o funcionamento dos genes por meio de análises computadorizadas. As sequências de DNA são armazenadas em um banco de dados em rede, chamado de *GenBank*. Informações genômicas podem ser pesquisadas em busca de padrões semelhantes nos genomas de organismos diferentes. Genes microbianos estão sendo pesquisados agora para identificar moléculas que sejam os fatores de virulência dos patógenos. Ao comparar os genomas de *Chlamidia trachomatis* e de *Clostridium difficile*, os pesquisadores descobriram que ambos produzem uma toxina semelhante.

O próximo objetivo é identificar as proteínas codificadas por esses genes. A **proteômica** é a ciência que determina todas as proteínas expressas em uma célula.

A **genética reversa** é uma abordagem utilizada para descobrir a função de um gene com base em sua sequência. A genética reversa tenta estabelecer uma conexão entre uma determinada sequência gênica e os efeitos específicos em um organismo. Por exemplo, se você mutar ou bloquear um gene de um organismo (veja a discussão sobre silenciamento gênico na página 259), você deve procurar por uma característica perdida por este organismo.

Um exemplo de aplicação do sequenciamento do DNA humano foi a identificação e a clonagem do gene mutante que causa a fibrose cística (FC). A FC é caracterizada pela supersecreção de muco, que leva ao bloqueio das vias respiratórias. A sequência do gene mutado pode ser utilizada como um instrumento de diagnóstico em uma técnica de hibridização denominada ***Southern blotting*** (**Figura 9.16**), chamada assim por causa de Ed Southern, que desenvolveu a técnica em 1975.

Nessa técnica,

1. O DNA humano é inicialmente digerido com um enzima de restrição, gerando milhares de fragmentos de diversos tamanhos. Os fragmentos diferentes são separados por **eletroforese em gel**.
2. Os fragmentos são colocados em uma canaleta, na extremidade de uma camada de gel de agarose. Uma corrente elétrica é então passada através do gel. Enquanto a carga é aplicada, os fragmentos de DNA de diferentes tamanhos migram através do gel com diferentes velocidades. Os fragmentos são chamados de **polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição** (**RFLPs**, de *restriction fragment length polymorphisms*).

3 – 4 Os fragmentos separados são transferidos para um filtro por absorção (*blotting*).

5. Os fragmentos no filtro são então expostos a uma sonda radioativa produzida a partir do gene de interesse clonado, nesse caso, o gene da FC. A sonda se hibridizará com esse gene mutante, mas não com o gene normal.
6. Os fragmentos aos quais a sonda se liga são identificados por meio da exposição do filtro a um filme de raios X. Com esse método, o DNA de qualquer pessoa pode ser testado para a verificação da presença ou não do gene mutado.

Esse processo, chamado de **triagem genética**, pode agora ser utilizado para diagnosticar várias centenas de doenças genéticas. Esses procedimentos de triagem podem ser realizados em futuros pais e também em tecido fetal. Dentre os genes mais comumente testados dessa maneira estão aqueles associados à forma hereditária do câncer de mama e o gene responsável pela doença de Huntington.

Microbiologia forense

Várias ferramentas de diagnóstico hoje disponíveis são resultado da engenharia genética e muitas delas são baseadas na técnica de hibridização. Lembre-se de que esse processo possibilita a identificação de uma determinada sequência de DNA em meio a muitas outras. Isso é exatamente o que é necessário na maioria das situações diagnósticas – a identificação de um determinado patógeno em meio a muitos outros.

As sondas de DNA como as utilizadas na seleção de clones em bibliotecas de genes são instrumentos promissores para a rápida identificação de micro-organismos. Para a utilização em diagnóstico médico, essas sondas são produzidas a partir do DNA de um micróbio patogênico e marcadas (com um marcador radioativo, por exemplo). A sonda pode então ser utilizada para diagnóstico, combinando-se com o DNA do patógeno para revelar a sua localização em tecido corporal (ou talvez a sua presença em alimentos). As sondas também estão sendo utilizadas em algumas aplicações não relacionadas com a medicina – por exemplo, na localização e na identificação de micróbios no solo. PCR e sonda de DNA serão objeto de uma discussão mais aprofundada no Capítulo 10.

Por muitos anos, os microbiologistas vêm utilizando os RFLPs em um método de identificação conhecido como ***DNA fingerprinting*** ("impressão digital de DNA") para identificar patógenos virais e bacterianos (**Figura 9.17**). A técnica do *DNA fingerprinting* também é usada em medicina forense para determinar paternidade ou provar se o sangue nas roupas de uma pessoa suspeita de cometer assassinato veio da vítima. O *Southern blotting* exige uma quantidade substancial de DNA. Como mencionado anteriormente, pequenas amostras de DNA podem ser rapidamente amplificadas por PCR, até que haja o suficiente para que a análise seja feita.

Chips de DNA (veja a Figura 10.17, página 293) e *microarranjos de PCR* estão sendo desenvolvidos e poderão ser utilizados na detecção de vários patógenos simultaneamente em uma amostra. Em um microarranjo de PCR, mais de 22 *primers* específicos para diferentes micro-organismos podem ser usados na reação. O micro-organismo é identificado se um fragmento de seu DNA for amplificado por algum dos *primers*.

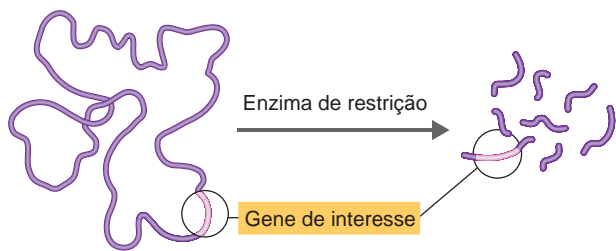
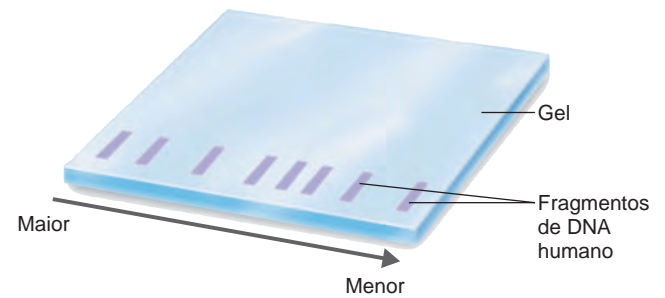
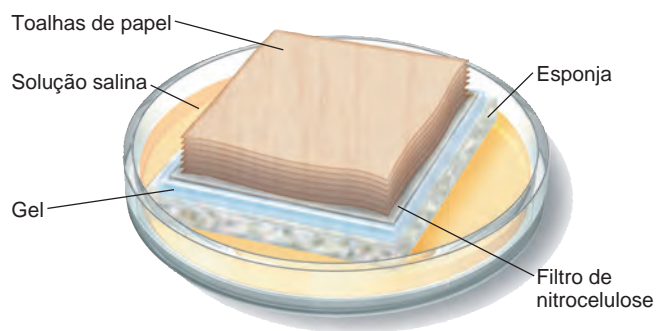
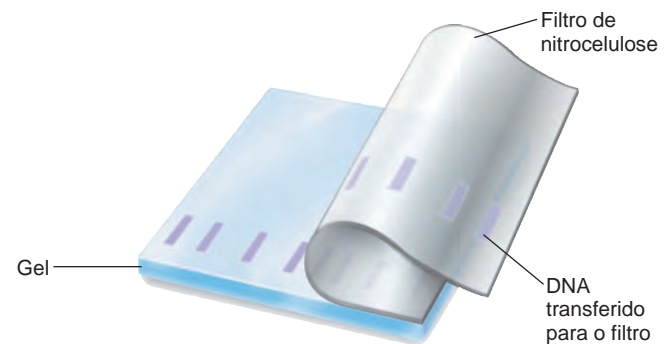
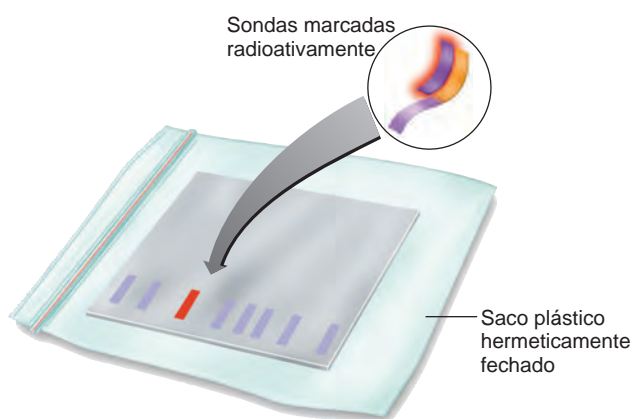
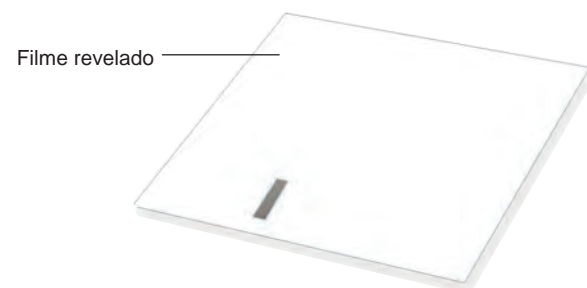
A genômica de patógenos vem se tornando a principal forma de monitoramento, prevenção e controle de doenças infecciosas. O uso da genômica na investigação de um surto de uma doença está descrito na página 266. O novo campo da **microbiologia forense** se desenvolveu porque hospitais e fabricantes de alimentos podem ser acionados judicialmente e porque micro-organismos podem ser utilizados como armas biológicas. A responsabilidade de provar judicialmente a origem de um micro-organismo é da comunidade médica. Por exemplo, para provar que um indivíduo teve a intenção de cometer uma infração, é necessário que haja a coleta e a proteção de evidências, e no contexto da microbiologia forense, a comunidade médica é que exerce tal função. Propriedades microbiológicas que apresentam pouca importância em saúde pública podem ser essenciais para as investigações forenses. A Academia Americana de Microbiologia propôs recentemente o reconhecimento legal do profissional especialista em microbiologia forense.

1 O DNA contendo o gene de interesse é extraído de células humanas e clivado em fragmentos por enzimas de restrição.

2 Os fragmentos são separados de acordo com o tamanho por eletroforese em gel. Cada banda consiste de muitas cópias de um determinado fragmento de DNA. As bandas são invisíveis, mas podem se tornar visíveis por coloração.

3 As bandas de DNA são transferidas para um filtro de nitrocelulose por absorção. A solução passa através do gel e do filtro para toalhas de papel.

4 Isso produz um filtro de nitrocelulose com fragmentos de DNA posicionados exatamente como no gel.

5 O filtro é exposto a uma sonda radioativamente marcada específica para um gene. A sonda irá parear suas bases (hibridizar) com uma sequência curta presente no gene.

6 O filtro é exposto a um filme de raios X. O fragmento contendo o gene de interesse é identificado por uma banda no filme revelado.

Figura 9.16 ***Southern blotting*.**

P Qual o objetivo do *Southern blotting*?

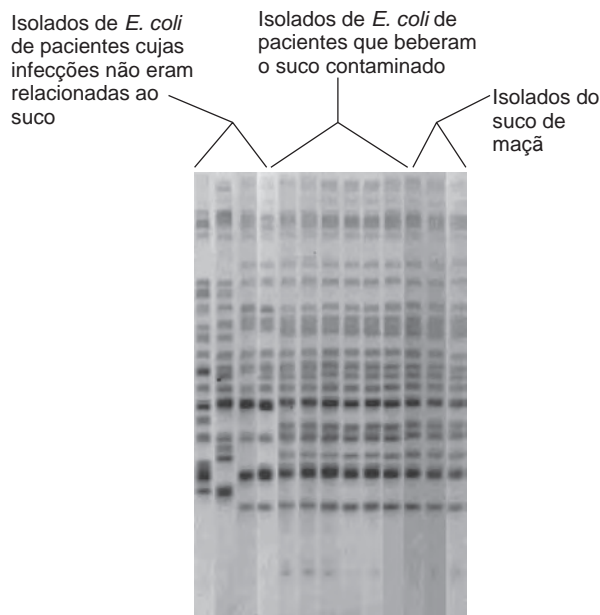



Figura 9.17 ***DNA fingerprinting* usado para rastrear uma doença infecciosa.** Esta figura mostra a relação entre padrões de DNA de isolados bacterianos de uma epidemia de *Escherichia coli* O157:H7. Os isolados do suco de maçã são idênticos aos padrões dos isolados dos pacientes que beberam o suco contaminado, mas diferentes daqueles dos pacientes cujas infecções não eram relacionadas ao suco. (CDC)

P O que é microbiologia forense?

O DNA com frequência pode ser extraído de fósseis preservados, incluindo múmias e plantas e animais extintos. Embora esse material seja raro muitas vezes esteja parcialmente degradado, a PCR permite que os pesquisadores estudem esse material genético que há muitos anos já não existe em sua forma natural.

Nanotecnologia

A **nanotecnologia** é a ciência relacionada com o design e o desenvolvimento de circuitos eletrônicos extremamente pequenos e aparatos mecânicos construídos ao nível molecular da matéria. Computadores e robôs do tamanho de moléculas podem ser usados na detecção de contaminação alimentar, doenças em plantas ou armas biológicas. Entretanto, essas pequenas máquinas (1 nanômetro equivale a 10^{-9} metros; 1.000 nm cabem em 1 μm) necessitam de peças e fios extremamente pequenos. As bactérias podem fornecer os pequenos pedaços de metal necessários. Pesquisadores da Associação Norte-Americana de Investigações Geológicas têm cultivado várias bactérias anaeróbicas capazes de reduzir o selênio tóxico, Se^{4+}, em selênio elementar (Se^{0}) não tóxico, estruturado em nanosferas (Figura 9.18).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como os seguintes itens estão relacionados com o Projeto Genoma Humano: sequenciamento por *shotgun*, bioinformática e proteômica? **9-16**

✓ O que é *Southern blotiing*? **9-17**

✓ Por que os RFLPS resultam em um *DNA Fingerprinting*? **9-18**

Figura 9.18 Células de *Bacillus* crescendo e formando cadeias de selênio elementar.

P O que a bactéria pode fornecer para a biotecnologia?

Aplicações na agricultura

O processo de seleção de plantas geneticamente desejáveis sempre foi muito demorado. A realização de cruzamentos convencionais entre vegetais é trabalhosa e envolve a espera pela germinação da semente plantada e pela maturação da planta. O cruzamento e a produção de plantas foram revolucionados pelo uso de células vegetais multiplicadas em cultura. Clones de células vegetais, incluindo células que foram geneticamente alteradas por técnicas de DNA recombinante, podem ser multiplicados em grande número. Essas células podem então ser induzidas a regenerarem plantas completas, a partir das quais podem ser produzidas sementes.

O DNA recombinante pode ser introduzido em células de vegetais de diversas maneiras. Anteriormente, mencionamos a fusão de protoplastos e o uso de "projéteis" revestidos com DNA. O método mais elegante, contudo, faz uso de um plasmídeo, denominado **plasmídeo Ti** (*Ti* é a abreviatura de *tumor-inducing*, ou indutor de tumor), que ocorre naturalmente na bactéria *Agrobacterium tumefaciens*. Essa bactéria infecta certas plantas, nas quais o plasmídeo causa a formação de um crescimento tumoral chamado de galha da coroa (Figura 9.19). Uma parte do plasmídeo Ti, chamada de T-DNA, estimula a multiplicação celular local (a galha da coroa) e, simultaneamente, leva à produção de certos compostos utilizados pela bactéria como uma fonte nutricional de carbono e nitrogênio.

Para os cientistas que trabalham com vegetais, o plasmídeo Ti é interessante por servir como veículo para a introdução de DNA modificado geneticamente em uma planta (Figura 9.20). Um cientista pode inserir genes exógenos no T-DNA, reintroduzir o plasmídeo recombinante em uma célula de *Agrobacterium* e utilizar a bactéria para inserir o plasmídeo Ti recombinante em uma célula vegetal. A célula vegetal com o gene exógeno pode então ser utiliza-

da para gerar uma nova planta. Com sorte, a nova planta expressará o gene exógeno. Infelizmente, *Agrobacterium* não infecta gramíneas naturalmente, de modo que não pode ser utilizado no melhoramento de cereais como trigo, arroz e milho.

Realizações importantes obtidas com essa abordagem foram a introdução em plantas da resistência ao herbicida glifosato e a toxina (Bt) derivada da bactéria *Bacillus thuringiensis* que funciona como inseticida. Normalmente, o herbicida mata tanto ervas daninhas como plantas úteis, inibindo uma enzima necessária para a produção de certos aminoácidos essenciais. A bactéria *Salmonella* possui enzimas, e algumas salmonelas possuem uma enzima mutante que é resistente ao herbicida. Quando o DNA para a enzima é introduzido em uma planta cultivada, ela se torna resistente ao herbicida, que então mata apenas as ervas daninhas. Existem agora várias plantas em que a resistência a diferentes herbicidas e pesticidas foi introduzida por engenharia genética. A resistência à seca, a infecções virais e a vários outros estresses ambientais também pode ser introduzida em plantas modificadas por engenharia genética. As bactérias *Bacillus thuringiensis* são patogênicas para alguns insetos, pois produzem uma proteína chamada de toxina Bt que interfere com o trato digestório do inseto. O gene da Bt foi inserido em diversas variedades de plantas, inclusive algodão e batata, e consequentemente o inseto que comer essas plantas irá morrer.

Figura 9.19 Galha da coroa em uma roseira. O crescimento tumoral é estimulado por um gene do plasmídeo Ti que está presente na bactéria *Agrobacterium tumefaciens*, que infectou a planta.

P Quais são algumas das aplicações agrícolas da engenharia genética?

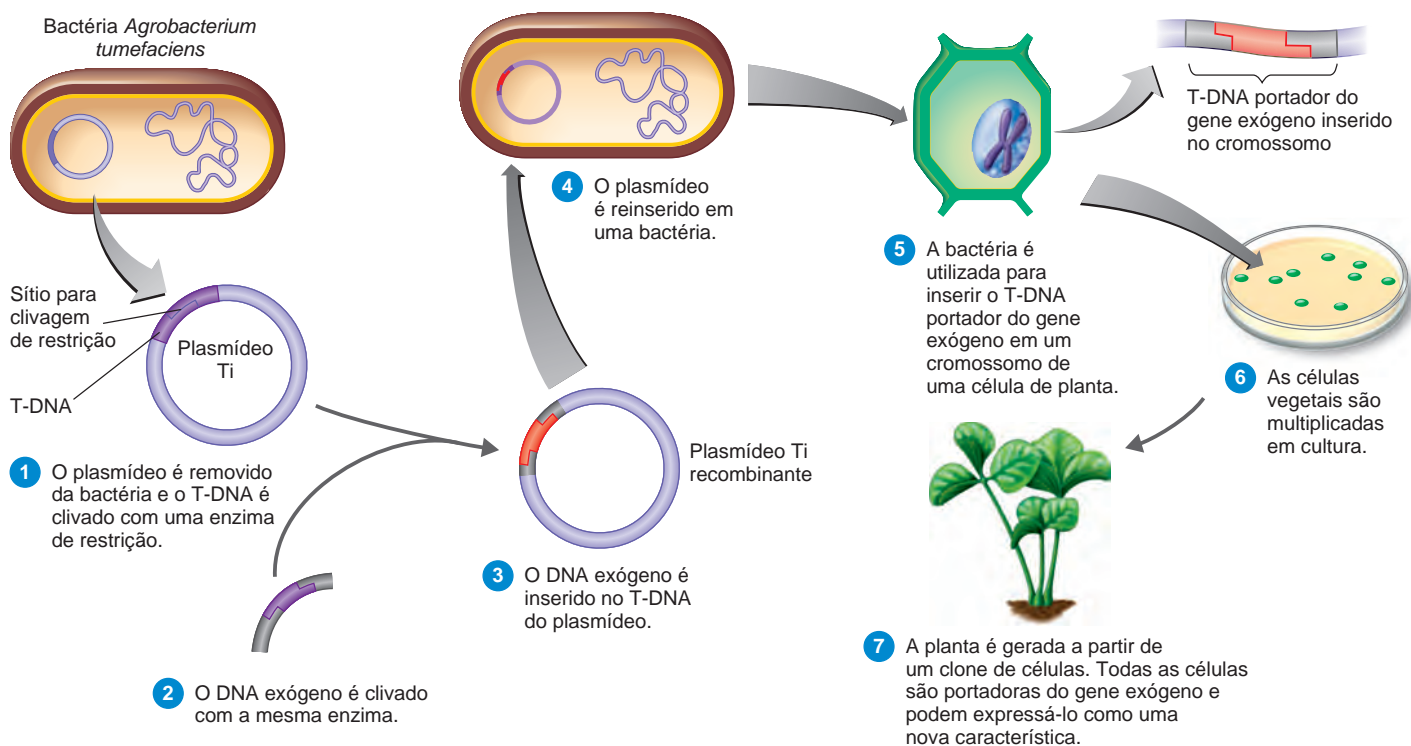



Figura 9.20 Utilizando o plasmídeo Ti como um vetor para a modificação genética de plantas.

P Por que o plasmídeo Ti é importante para a biotecnologia?

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Norovírus – quem é o responsável pelo surto?

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os microbiologistas se perguntam quando investigam o surto de uma doença. A convocação de microbiologistas como experts em cortes de justiça dependerá do modo que a investigação será conduzida. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. No dia 7 de maio, o Departamento de Saúde da cidade de Kent (Michigan) foi notificado a respeito de um surto de gastrenterite que acometeu 115 pessoas. Foram relatados vômito, diarreia e febre, cólicas ou náuseas.
   O que você precisa saber?

2. Dentre os doentes estão 23 funcionários de uma escola, 55 funcionários de uma empresa de publicidade, 9 funcionários de uma organização que presta serviços sociais, além de outras 28 pessoas (veja a **Figura A**).
   Qual é o próximo passo?

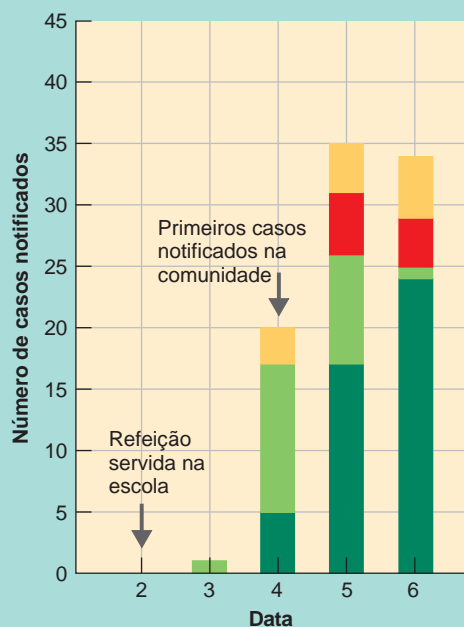



Figura A Número de casos notificados.

3. No dia 2 de maio, foram servidos aos funcionários da escola sanduíches fornecidos por uma rede nacional de restaurantes. No dia 3 de maio, os funcionários da empresa publicitária e da companhia de serviço social foram servidos pelo mesmo restaurante. As demais 28 pessoas também comeram sanduíches no mesmo restaurante.
   O que você precisa saber?

4. Ao todo, 16 ingredientes utilizados pelo restaurante foram analisados. Os resultados indicaram que o consumo de alface foi significativamente associado à doença.
   O que você deveria saber?

5. Transcrição reversa-PCR (RT-PCR), utilizando *primers* específicos para norovírus, foi feita a partir das fezes dos pacientes.
   O que você pode concluir?

6. A RT-PCR confirmou a infecção por norovírus. Análises das sequências nucleotídicas de 21 amostras demonstraram 100% de identidade entre essas amostras.
   O que você precisa saber?

7. Os investigadores descobriram que um dos funcionários do restaurante, que manipula diretamente os alimentos, apresentou vômito e diarreia no dia 1º de maio. Esse funcionário acredita que contraiu a doença de seu filho. As investigações apontaram que a criança adquiriu a doença de um primo, que foi exposto ao norovírus em uma creche. O sintoma de vômito do funcionário do restaurante terminou no início da manhã do dia 2 de maio, e ele retornou ao trabalho no final daquela manhã.
   O que você deve observar agora?

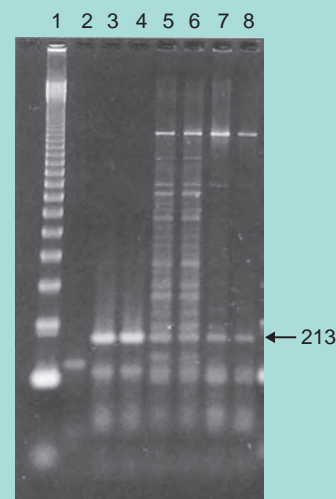
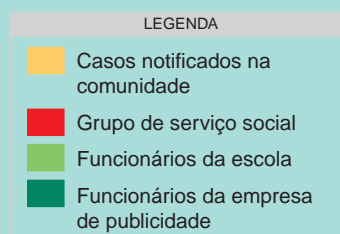



Figura B Resultados da RT-PCR de amostras dos pacientes. Canaleta 1, marcador de tamanho molecular. Canaleta 2, controle negativo da RT-PCR. Canaletas de 3 a 8, amostras dos pacientes. O norovírus é identificado pela banda de DNA de 213 pb.

8. As sequências nucleotídicas da amostra de norovírus detectada no funcionário foram idênticas às obtidas de oito fregueses do restaurante.
   O que você observa agora?

9. A alface era picada toda manhã pelo funcionário que apresentou os sintomas. As investigações revelaram que a pia utilizada para o processamento de alimentos estava sendo usada para a higienização das mãos. A pia não foi desinfetada antes e depois que a alface foi lavada. O restaurante foi fechado por cerca de uma semana pelo departamento de saúde, pois não estava sendo apropriadamente higienizado.

Fonte: Adaptado de *MMWR* 55(14): 395-397; 14 de abril de 2006.

Tabela 9.3 Alguns produtos de engenharia genética importantes para a agricultura e para a pecuária

Produto	Comentários
Produtos para a agricultura	
Algodão Bt e milho Bt	Plantas que possuem o gene produtor de toxina de *Bacillus thuringiensis*; a toxina mata os insetos que se alimentam das plantas
Tomates MacGregor	O gene antissenso bloqueia a degradação da pectina, dando uma maior duração para as frutas nas prateleiras dos supermercados
Bactéria *Pseudomonas fluorescens*	Possui o gene produtor da toxina *B. thuringiensis*, patógeno de insetos; a toxina mata os insetos que se alimentam de raízes quando eles ingerem a bactéria
Pseudomonas syringae, bactéria gelo-menos	Não produz uma proteína que normalmente inicia a formação indesejável de gelo em plantas
Bactéria *Rhizobium meliloti*	Modificada para aumentar a sua capacidade de fixar nitrogênio
Lavouras resistentes a *Round-up* (glifosato)	Plantas que possuem o gene bacteriano; permite o uso do herbicida em ervas daninhas sem dano para as plantas cultivadas
Produtos para a pecuária	
Hormônio do crescimento bovino (bGH)	Aumenta o ganho de peso e a produção de leite em bovinos; produzido em *E. coli*
Hormônio do crescimento suíno (pGH)	Aumenta o ganho de peso em suínos; produzido em *E. coli*
Animais transgênicos	Animais alterados geneticamente para produzirem proteínas com propriedades médicas no leite
Outras proteínas para a produção de alimentos	
Celulase	Enzimas que degradam celulose para a produção de estoques de alimentos para animais; produzida em *E. coli*
Renina	Causa a formação de coalhos em laticínios; produzida por *Aspergillus niger*

Outro exemplo envolve uma marca norte-americana de tomates alterados geneticamente (MacGregor), que permanece firme após a colheita, porque o gene para a poligalacturonase (PG), a enzima que degrada pectina, é suprimido. A supressão foi obtida pela **tecnologia do DNA antissenso**. Primeiro, um pedaço do DNA complementar do mRNA da PG é sintetizado. Esse DNA antissenso é absorvido pela célula e se liga ao mRNA para inibir a tradução. O híbrido DNA-RNA é degradado pelas enzimas celulares, liberando o DNA antissenso para incapacitar outros mRNAs.

Talvez a utilidade potencial mais promissora da engenharia genética de vegetais diga respeito à fixação de nitrogênio, a capacidade de converter o nitrogênio gasoso do ar em compostos que podem ser utilizados por células vivas (veja a página 771). A disponibilidade desses nutrientes que contêm nitrogênio geralmente é o principal fator limitante do crescimento de uma planta cultivada. Entretanto, na natureza, somente algumas bactérias possuem genes que realizam esse processo. Algumas plantas, como a alfafa, são beneficiadas por uma relação simbiótica com esses micróbios. Espécies da bactéria simbiótica *Rhizobium* já foram modificadas geneticamente para aumentar a sua capacidade de fixação de nitrogênio. No futuro, poderão ser desenvolvidas linhagens de *Rhizobium* capazes de colonizar plantas cultivadas como milho e trigo, possivelmente eliminando a exigência da utilização de fertilizantes nitrogenados. O objetivo final seria a introdução de genes de fixação de nitrogênio funcionais diretamente nas plantas. Embora esse objetivo ainda não possa ser atingido com o nosso conhecimento atual, o trabalho nesse sentido continuará, devido ao seu potencial para aumentar consideravelmente o suprimento de alimentos em nível mundial.

Um exemplo de uma bactéria modificada por engenharia genética que agora está sendo utilizada na agricultura é *Pseudomonas fluorences*, que foi alterada de modo a produzir uma toxina normalmente produzida por *Bacillus thuringiensis*. Essa toxina mata certos patógenos de vegetais, como a broca do milho europeia. A *Pseudomonas* alterada geneticamente, que produz muito mais toxina que *B. thuringiensis*, pode ser adicionada a sementes de plantas que posteriormente terão a bactéria em seus sistemas vasculares. A toxina bacteriana mata a larva da broca que se alimenta das plantas inoculadas (mas é inócua para seres humanos e outro animais homeotérmicos).

A criação de animais também se beneficiou da engenharia genética. Vimos que um dos primeiros produtos comerciais da engenharia genética foi o hormônio do crescimento humano. Por métodos similares, é possível a produção do hormônio do crescimento bovino (bGH). Quando o bGH é injetado em gado de corte, ele aumenta o ganho de peso dos animais; em vaca leiteiras ele também causa o aumento de 10% na produção de leite. Esses procedimentos causam resistência por parte dos consumidores, em especial na Europa, principalmente devido a temores, até agora não confirmados, de que o bGH estaria presente no leite ou na carne desses animais e poderia ser prejudicial para seres humanos.

A Tabela 9.3 lista esses e vários outros produtos da engenharia genética utilizados na agricultura e na pecuária.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual a importância do patógeno de plantas *Agrobacterium*? **9-19**

Questões de segurança e ética na engenharia genética

OBJETIVO DO APRENDIZADO

9-20 Listar as vantagens do uso das técnicas de engenharia genética e os problemas associados a elas.

Sempre existirão dúvidas a respeito da segurança de qualquer tecnologia nova, e a engenharia genética e a biotecnologia certamente não são exceções. Uma das razões para esse tipo de preocupação reside no fato de que é quase impossível provar que alguma coisa é inteiramente segura sob todas as condições imagináveis. As pessoas temem que as mesmas técnicas capazes de alterar um micróbio ou uma planta para torná-los úteis para seres humanos também possam inadvertidamente torná-los patogênicos para o homem, ou perigosos para outros organismos vivos, ou causar um desastre ecológico. Por isso, laboratórios que empregam técnicas de DNA recombinante devem atender a rigorosos padrões de controle, de modo a evitarem a liberação acidental de organismos geneticamente modificados para o meio ambiente ou a exposição de seres humanos a qualquer risco de infecção. Para uma maior redução dos riscos, os microbiologistas que utilizam técnicas de engenharia genética geralmente removem dos genomas microbianos alguns genes que são essenciais para a multiplicação desses organismos em ambientes externos ao laboratório. Organismos alterados geneticamente destinados à utilização no meio ambiente (na agricultura, por exemplo) podem ser modificados para conterem "genes de suicídio" – genes que acabam sendo ativados e produzem uma toxina que mata os micróbios, assegurando assim que eles não sobreviverão no ambiente por muito tempo depois de terem cumprido seu propósito.

Os problemas de segurança na biotecnologia agrícola são semelhantes àqueles dos pesticidas químicos: toxicidade para humanos e espécies não nocivas. Embora não tenha sido provado que são prejudiciais, os alimentos alterados geneticamente não têm sido populares com os consumidores. Em 1999, pesquisadores em Ohio, nos Estados Unidos, perceberam que as pessoas podem desenvolver alergias à toxina (Bt) de *Bacillus thuringiensis* depois de trabalharem em lavouras que tenham recebido o inseticida. Um estudo no Iowa, também nos Estados Unidos, demonstrou que borboletas monarca no estágio de lagarta poderiam ser mortas ao ingerir oficiais-de-sala, a planta da qual normalmente se alimentam, coberta por pólen carregando Bt. As plantas podem ser alteradas geneticamente para resistir aos herbicidas, para que ele possa ser espalhado nas lavouras, eliminando as ervas daninhas, mas sem matar a cultura desejada. No entanto, se as plantas alteradas geneticamente polinizarem espécies de ervas daninhas semelhantes, essas ervas poderiam se tornar resistentes aos herbicidas, tornando o controle das plantas indesejadas mais difícil. Uma questão ainda sem resposta é se os organismos modificados geneticamente irão alterar a evolução à medida que os genes avançam para espécies silvestres.

Essas tecnologias em constante avanço também levantam uma série de questões morais e éticas. Se a triagem genética para doenças tornar-se rotina, quem deverá ter acesso a essa informação? Empregadores e companhia de seguros deverão ter o direito de conhecer os resultados de tais testes? A restrição do acesso a essa informação será bastante difícil, o que levanta questões referentes ao direito à privacidade. Como poderá nos ser assegurado que essa informação não será utilizada na discriminação contra certos grupos?

As aplicações das técnicas de triagem não estão limitadas a adultos. A capacidade de diagnosticar uma doença genética em um feto traz ainda mais controvérsia para o debate sobre o aborto. O aconselhamento genético, que fornece pareceres e conselhos a pais potenciais com histórias familiares de doença genética, está se tornando mais importante em considerações sobre ter ou não filhos. As decisões reprodutivas podem se tornar mais difíceis para certas famílias à medida que se aprende mais sobre as causas genéticas de várias doenças, como o câncer ou a doença de Huntington.

Quais serão os encargos adicionais que a engenharia genética colocará sobre o nosso já sobrecarregado sistema de saúde? Os procedimentos de triagem genética e de terapia gênica são caros, sendo necessário considerar como eles serão oferecidos para o público à medida que a tecnologia se desenvolve. Haverá um número suficiente de conselheiros genéticos para trabalhar com as pessoas? As curas e os tratamentos médicos caros estarão disponíveis apenas para aqueles que puderem pagar?

É provável que o número de aplicações prejudiciais de uma nova tecnologia seja tão grande quanto aplicações de cunho positivo. É particularmente fácil imaginar a engenharia genética sendo utilizada para desenvolver novas e poderosas armas biológicas. Além disso, como alguns esforços de pesquisas são realizados secretamente, é quase impossível que o público em geral tome conhecimento deles.

A engenharia genética, talvez mais que a maioria das tecnologias de ponta, tem o potencial de afetar a vida humana de maneira inimaginável. É importante que sejam dadas à sociedade e aos indivíduos todas as oportunidades necessárias para a compreensão do impacto do desenvolvimento dessa nova tecnologia.

Assim como a invenção do microscópio, o desenvolvimento das técnicas de DNA recombinante está causando mudanças profundas na ciência, na agricultura e na saúde humana. Com essa tecnologia de pouco mais de 30 anos de idade, é difícil prever exatamente quais serão as mudanças que ocorrerão. Entretanto, é provável que, dentro de mais 30 anos, muitos dos tratamentos e dos métodos diagnósticos discutidos neste livro tenham sido substituídos por técnicas muito mais poderosas, com base na capacidade sem precedentes de manipular o DNA com precisão.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Identifique duas vantagens e dois problemas associados a organismos geneticamente modificados. **9-20**

RESUMO PARA ESTUDO

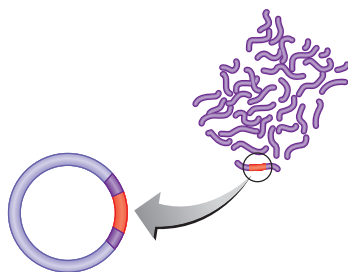
Introdução à biotecnologia (p. 247)

1. Biotecnologia é o uso de micro-organismos, células ou componentes celulares para fazer um produto.

Tecnologia do DNA recombinante (p. 247)

2. Os organismos de parentesco próximo podem trocar genes por recombinação natural.
3. Os genes podem ser transferidos entre espécies não relacionadas por meio de manipulação em laboratório, em um conjunto de processos chamado de engenharia genética.
4. O DNA recombinante é o DNA que foi artificialmente manipulado para combinar genes de duas origens diferentes.

Visão geral da tecnologia do DNA recombinante (p. 247)

5. Um gene desejado é inserido em um vetor de DNA, como um plasmídeo ou genoma viral.
6. O vetor insere o DNA em uma nova célula, que se multiplica para formar um clone.
7. Grandes quantidades do gene ou do seu produto podem ser obtidas a partir do clone.

Ferramentas da biotecnologia (p. 247-252)

Seleção (p. 249)

1. Micróbios com características desejáveis são selecionados, por meio de seleção artificial, para serem cultivados.

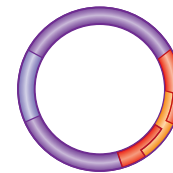
Mutação (p. 249)

2. Mutagênicos são usados para causar mutações que possam resultar em um micro-organismo com características desejáveis.
3. A mutagênese sítio-dirigida é usada para mudar um códon específico em um gene.

Enzimas de restrição (p. 249, 250)

4. Já estão disponíveis kits pré-embalados para muitas técnicas de engenharia genética.
5. Uma enzima de restrição reconhece e cliva apenas uma determinada sequência nucleotídica no DNA.
6. Algumas enzimas de restrição produzem extremidades coesivas, que são pequenos segmentos de DNA de fita simples nas extremidades de fragmentos de DNA.
7. Fragmentos de DNA produzidos pela mesma enzima de restrição vão se unir espontaneamente por pareamento de bases. A DNA-ligase pode ligar covalentemente os esqueletos de DNA.

Vetores (p. 250, 251)

8. Os vetores bifuncionais (*shuttle vectors*) são plasmídeos que podem ser usados em várias espécies diferentes.
9. Um plasmídeo contendo um novo gene pode ser inserido em uma célula por transformação.
10. Um vírus contendo um novo gene pode inserir o gene em uma célula.

Reação em cadeia da polimerase (p. 251, 252)

11. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é utilizada para produzir enzimaticamente múltiplas cópias de um fragmento de DNA desejado.
12. A PCR pode ser utilizada para aumentar a quantidade de DNA em amostras até níveis detectáveis. Isso pode permitir o sequenciamento de genes, o diagnóstico de doenças genéticas ou a detecção de vírus.

Técnicas de engenharia genética (p. 253-258)

Inserção de DNA exógeno nas células (p. 253, 254)

1. As células podem captar DNA livre por transformação. Os tratamentos químicos são utilizados para transformar células que não são naturalmente competentes para a absorção de DNA.
2. Os poros produzidos em protoplastos e em células animais por aplicação de uma corrente elétrica no processo de eletroporação podem permitir a entrada de novos fragmentos de DNA.
3. A fusão de protoplastos é a união de células que tiveram suas paredes celulares removidas.
4. O DNA exógeno pode ser introduzido em células vegetais pela injeção de partículas cobertas com DNA no interior das células.
5. O DNA exógeno pode ser injetado em células animais com o auxílio de uma micropipeta de vidro.

Obtenção do DNA (p. 254-256)

6. As bibliotecas de genes podem ser produzidas a partir da clivagem de todo um genoma com enzimas de restrição e da inserção dos fragmentos em plasmídeos bacterianos ou fagos.
7. O cDNA, produzido a partir de mRNA por transcrição reversa, pode ser clonado em bibliotecas de genes.
8. O DNA sintético pode ser produzido *in vitro* por máquinas de síntese de DNA.

Selecionando um clone (p. 256, 257)

9. Os marcadores de resistência a antibióticos em vetores plasmidiais são utilizados para identificar, por seleção direta, células contendo o vetor modificado geneticamente.

10. Na seleção branca-azul, o vetor contém os genes para amp^R e β-galactosidase.
11. O gene desejado é inserido em um sítio no gene da β-galactosidase, tornando-o inativo.
12. Os clones contendo o vetor recombinante serão resistentes à ampicilina e incapazes de hidrolisar X-gal (colônias brancas). Os clones contendo o vetor sem o novo gene serão azuis. Clones sem o vetor não formarão colônias.
13. Os clones contendo DNA exógeno podem ser testados para a identificação daqueles expressando o produto do gene desejado.
14. Um pequeno fragmento de DNA marcado, chamado de sonda de DNA, pode ser utilizado na identificação de clones portadores do gene desejado.

Fazendo um produto gênico (p. 257, 258)

15. E. coli é utilizada para produzir proteínas por engenharia genética, pois é facilmente multiplicada em cultura e a sua genômica é bem conhecida.
16. Devem ser feitos esforços para assegurar que a endotoxina de *E. coli* não contamine um produto destinado ao uso humano.
17. Para recuperar o produto, *E. coli* deve ser lisada ou o gene deve estar ligado a outro que produza uma proteína secretada naturalmente.
18. As leveduras podem ser modificadas geneticamente e, em geral, secretar de forma contínua o produto gênico.
19. As células de mamíferos podem ser modificadas geneticamente para produzir proteínas como hormônios para uso médico.
20. As células vegetais podem ser modificadas geneticamente para produzir plantas com novas propriedades.

Aplicações da engenharia genética (p. 258-268)

1. O DNA clonado é utilizado na obtenção de produtos, no seu próprio estudo e na alteração do fenótipo de um organismo.

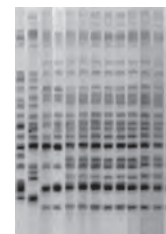
Aplicações terapêuticas (p. 258-260)

2. Os genes sintéticos ligados ao gene da β-galactosidase (*lacZ*) em um vetor plasmidial foram inseridos em *E. coli*, fazendo com que a bactéria produzisse e secretasse os dois polipeptídeos utilizados na produção da insulina humana.
3. As células e os vírus podem ser modificados por engenharia genética para carregarem um gene que codifica uma proteína de superfície de um patógeno. Quando o vírus é utilizado como vacina, o hospedeiro desenvolve uma resposta imune contra o patógeno.
4. Uma vacina de DNA é uma molécula de DNA recombinante clonada em uma célula bacteriana.
5. A terapia gênica pode ser utilizada na cura de doenças genéticas pela substituição do gene defectivo ou ausente.

O Projeto Genoma Humano (p. 261)

6. As técnicas de engenharia genética foram utilizadas para mapear o genoma humano pelo Projeto Genoma Humano.
7. Isso fornecerá ferramentas para diagnóstico e, possivelmente, viabilizará o reparo de doenças genéticas.

Aplicações científicas (p. 261-264)

8. As técnicas de DNA recombinante podem ser utilizadas para aumentar o conhecimento disponível sobre DNA, para *fingerprinting* genético e para terapia gênica.
9. As máquinas de sequenciamento de DNA são utilizadas para determinar a sequência de bases nucleotídicas de fragmentos de restrição no sequenciamento aleatório *shotgun*.
10. Bioinformática é o uso de aplicações computadorizadas para estudar dados genéticos; proteômica é o estudo das proteínas da célula.
11. O *Southern blotting* pode ser utilizado para localizar um gene em uma célula.
12. O *Southern blotting* é utilizado em *DNA fingerprinting* para identificar patógenos bacterianos ou virais.
13. As sondas de DNA podem ser utilizadas para identificar rapidamente um patógeno em um tecido corporal ou em alimentos.

Aplicações na agricultura (p. 264-268)

14. As células de plantas com características desejáveis podem ser clonadas de modo a produzirem muitas células idênticas, que podem então ser utilizadas na produção de plantas completas, a partir das quais podem ser obtidas sementes.
15. As células vegetais podem ser modificadas geneticamente utilizando o plasmídeo Ti como vetor. Os genes T produtores de tumor são substituídos pelos genes desejados, e o DNA recombinante é inserido em *Agrobacterium*. A bactéria transforma naturalmente suas plantas hospedeiras.
16. Os genes para resistência ao glifosato, toxina BT e supressão de pectinase foram inseridos em lavouras por engenharia genética.
17. O *Rhizobium* foi modificado por engenharia genética para ter uma maior capacidade de fixação de nitrogênio.
18. *Pseudomonas* foi modificada por engenharia genética para produzir a toxina de *Bacillus thuringiensis* contra insetos.
19. O hormônio do crescimento bovino está sendo produzido em *E. coli*.

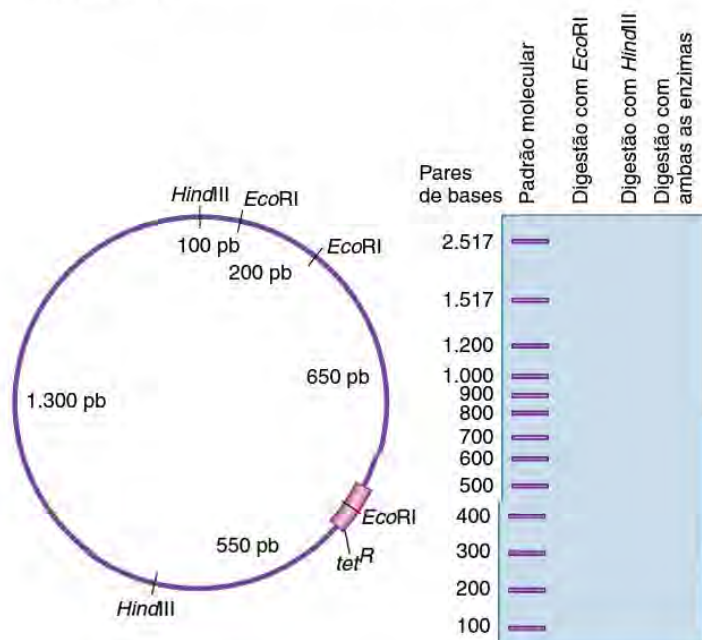
Questões de segurança e ética na engenharia genética (p. 268)

1. Para evitar a liberação acidental de micro-organismos modificados por engenharia genética são utilizados padrões rígidos de segurança.
2. Alguns micróbios utilizados em engenharia genética foram alterados de modo que são incapazes de sobreviver fora do ambiente de laboratório.
3. Os micro-organismos destinados à utilização no meio ambiente podem ser modificados por engenharia genética de modo a conterem genes de suicídio. Assim, eles não persistem no meio ambiente.
4. A tecnologia genética suscita questões éticas, como: empregadores e companhias seguradoras podem ter acesso aos registros genéticos de uma pessoa? Será que algumas pessoas se tornarão alvo para esterilização ou reprodução? O aconselhamento genético estará disponível para todos?
5. As culturas de alimentos alterados por engenharia genética devem ser seguras para consumo e para serem liberadas no meio ambiente.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Compare e diferencie os seguintes termos:
   a. cDNA e gene.
   b. Fragmento de restrição e gene.
   c. Sonda de DNA e gene.
   d. DNA-polimerase e DNA-ligase.
   e. DNA recombinante e cDNA.
   f. Genoma e proteoma.
2. Diferencie os seguintes termos. Qual deles é "aleatório", ou seja, não adiciona um gene específico a uma célula?
   a. Fusão de protoplasto.
   b. Pistola de genes.
   c. Microinjeção.
   d. Eletroporação.
3. **DESENHE** Utilizando o seguinte mapa do plasmídeo pMICRO, desenhe a posição dos fragmentos de restrição que resulta da digestão do plasmídeo com *Eco*RI, *Hind*III e com as duas enzimas simultaneamente. Qual o menor fragmento que contém o gene de resistência à tetraciclina?

4. Algumas das enzimas mais comumente usadas estão listadas na Tabela 9.1, página 249.
   a. Indique quais enzimas produzem extremidades coesivas.
   b. Qual a importância das extremidades coesivas na produção de DNA recombinante?
5. Suponha que você desejasse múltiplas cópias de um gene que você sintetizou. Como você poderia obter as cópias necessárias por clonagem? E por PCR?
6. Descreva um experimento de engenharia genética em duas ou três frases. Utilize os seguintes termos: íntron, éxon, DNA, mRNA, cDNA, RNA-polimerase e transcriptase reversa.
7. Liste pelo menos dois exemplos do uso da engenharia genética na medicina e na agricultura.
8. Você está tentado inserir um gene para tolerância à água salgada em uma planta utilizando o plasmídeo Ti. Além do gene desejado, você adicionou o gene para a resistência à tetraciclina (tet^R) no plasmídeo. Qual o propósito do gene tet^R?
9. Como o RNAi "silencia" um gene?

Múltipla escolha

1. As enzimas de restrição foram descobertas inicialmente observando que
   a. O DNA está restrito ao núcleo.
   b. O DNA de um fago é destruído em uma célula hospedeira.
   c. O DNA exógeno é mantido fora de uma célula.
   d. O DNA exógeno é restrito ao citoplasma.
   e. Todas as alternativas.
2. A sonda de DNA 3'GGCTTA hibridizará com o DNA contendo:
   a. 5'-CCGUUA.
   b. 5'-CCGAAT.
   c. 5'-GGCTTA.
   d. 3'-CCGAAT.
   e. 3'-GGCAAU.
3. Qual das seguintes é a quarta etapa básica da engenharia genética?
   a. Transformação.
   b. Ligação.
   c. Clivagem do plasmídeo.
   d. Digestão do gene com uma enzima de restrição.
   e. Isolamento do gene.
4. Qual das enzimas a seguir é a segunda a ser utilizada no processo de síntese do cDNA?
   a. Transcriptase reversa.
   b. Ribozima.
   c. RNA-polimerase.
   d. DNA-polimerase.
5. Se você colocasse um gene em um vírus, a próxima etapa da engenharia genética seria:
   a. A inserção de um plasmídeo.
   b. A transformação.
   c. A transdução.
   d. A PCR.
   e. O *Southern blotting*.
6. Você tem um pequeno gene e quer replicá-lo por PCR. Você adiciona nucleotídeos marcados radioativamente ao termociclador da PCR. Após três ciclos de replicação, qual é a porcentagem de filamentos simples de DNA que estão marcados radioativamente?
   a. 0%.
   b. 12,5%.
   c. 50%.
   d. 87,5%.
   e. 100%.

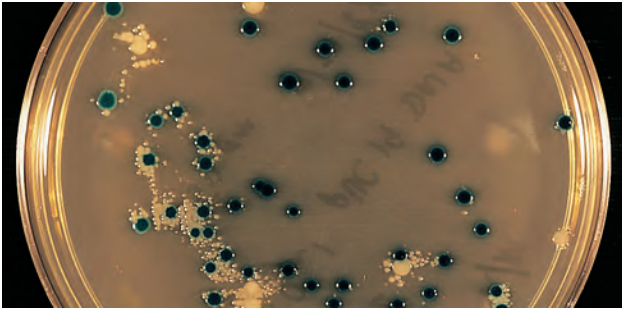
Correlacione as seguintes opções com as afirmações nas questões 7 a 10.

   a. Antissenso.
   b. Clone.
   c. Biblioteca.
   d. *Southern blot*.
   e. Vetor.

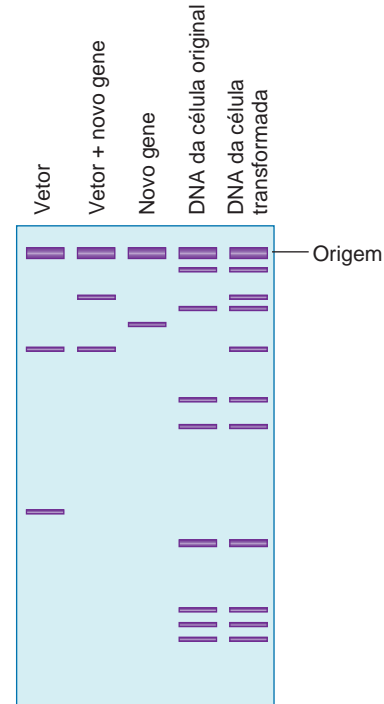
7. Fragmentos de DNA humano armazenados em células de leveduras.

8. Uma população de células carregando o plasmídeo desejado.
9. DNA autorreplicativo para transmitir um gene de um organismo para outro.
10. Um gene que se hibridiza com mRNA.

Pensamento crítico

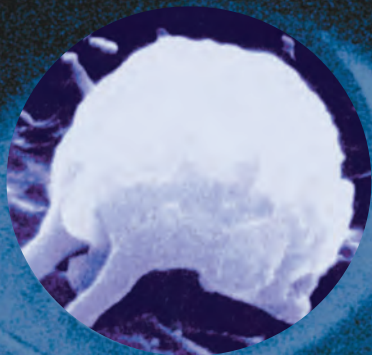
1. Projete um experimento utilizando o *Vaccinia virus* para a produção de uma vacina contra o vírus da Aids (HIV).
2. Por que a utilização da DNA-polimerase da bactéria *Thermus aquaticus* permite que os pesquisadores adicionem os reagentes necessários a tubos em um bloco de aquecimento pré-programado?
3. A foto abaixo mostra colônias de bactérias se desenvolvendo em X-gal mais ampicilina em um teste de seleção azul-branca. Quais colônias possuem o plasmídeo recombinante? As pequenas colônias em forma de satélites não possuem plasmídeos. Por que elas começaram a se desenvolver no meio 48 horas depois das colônias maiores?

Aplicações clínicas

1. A PCR vem sendo utilizada para detectar a presença de *Vibrio cholerae* em ostras. Ostras de diferentes áreas foram homogeneizadas e DNA foi extraído dos homogenatos. O DNA foi digerido com a enzima de restrição *Hinc*II. Um *primer* para o gene da hemolisina de *V. cholerae* foi usado na PCR. Depois da PCR, cada amostra foi submetida à eletroforese e corada com uma sonda para o gene da hemolisina. Qual(is) das amostras de ostra era(m) positiva(s) para *V. cholerae*? Por que você pode afirmar isto? Por que testar ostras quanto à presença de *V. cholerae*? Qual a vantagem da PCR em relação a testes bioquímicos convencionais para identificar a bactéria?

2. Utilizando a enzima de restrição *Eco*RI, foram obtidos os seguintes padrões a partir da digestão de várias moléculas de DNA de um experimento de transformação e da separação por eletroforese. Você pode concluir, a partir desses dados, que a transformação ocorreu? Explique por que sim ou por que não.

10 Classificação dos Micro-organismos

A ciência da classificação, especialmente a classificação dos seres vivos, é chamada de **taxonomia** (do grego para arranjo ordenado). O objetivo da taxonomia é classificar organismos vivos – ou seja, estabelecer relações entre um grupo e outro de micro-organismos e os diferenciar. Devem existir em torno de 100 milhões de organismos vivos diferentes, sendo que menos de 10% foram descobertos, e muito menos, classificados e identificados.

A taxonomia também fornece uma referência comum para identificar organismos já identificados. Por exemplo, quando uma bactéria suspeita de ter causado uma doença específica é isolada de um paciente, as características deste isolado são comparadas com uma lista de características de bactérias previamente classificadas para identificar o isolado (veja o quadro na página 283). Finalmente, a taxonomia é uma ferramenta básica e necessária para os cientistas, fornecendo uma linguagem universal de comunicação.

A taxonomia moderna é um campo excitante e dinâmico. Novas técnicas de biologia molecular e genética estão fornecendo uma nova visão para a classificação e a evolução. Neste capítulo, vamos aprender os diversos sistemas de classificação, os diferentes critérios utilizados na classificação e os testes utilizados para identificar os micro-organismos que já foram classificados.

SOB O MICROSCÓPIO

Pneumocystis jirovecii. Era considerado um protozoário até que uma análise de DNA mostrou que era um fungo. *P. jirovecii* causa pneumonia em pessoas imunocomprometidas.

P&R

Por que é importante saber se um micro-organismo é classificado como um protozoário ou um fungo?

Procure pela resposta neste capítulo.

O estudo das relações filogenéticas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

10-1 Definir *taxonomia*, *táxon* e *filogenia*.

10-2 Discutir as limitações de um sistema de classificação de dois reinos.

10-3 Identificar as contribuições de Linnaeus, Von Nägeli, Chatton, Whittaker e Woese.

10-4 Discutir as vantagens do sistema de três reinos.

10-5 Listar as características dos domínios *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*.

Em 2001, um projeto internacional chamado de *All Species Inventory* foi lançado. O propósito do projeto é identificar e registrar todas as espécies de vida na Terra nos próximos 25 anos. Os pesquisadores se encarregaram de uma tarefa desafiadora até o momento, os biólogos identificaram mais de 1,7 milhão de organismos vivos diferentes, mas estima-se que o número de espécies vivas esteja entre 10 e 100 milhões.

Entre esses organismos diferentes existem muitas similaridades. Por exemplo, todos os organismos são constituídos de células envoltas por uma membrana plasmática, utilizam ATP como energia e armazenam sua informação genética no DNA. Essas similaridades são o resultado da evolução a partir de um ancestral comum. Em 1859, o naturalista inglês Charles Darwin propôs que a seleção natural foi responsável pelas similaridades e diferenças entre os organismos. Essas diferenças podem ser atribuídas à sobrevivência dos organismos com características melhor adaptadas a um ambiente em particular.

Para facilitar as pesquisas, o conhecimento e a comunicação, utilizamos a **taxonomia** – ou seja, classificamos os organismos em categorias, ou **taxa** (singular: *táxon*), para mostrar graus de similaridade entre eles. Essas similaridades se devem ao parentesco – todos os organismos são relacionados pela evolução. A **sistemática,** ou **filogenia,** é o estudo da história evolutiva dos organismos. A hierarquia dos taxa reflete relações de evolução ou filogenias.

Desde os tempos de Aristóteles, os organismos vivos eram classificados de duas maneiras, como plantas ou como animais. Em 1735, o botânico sueco Carolus Linnaeus apresentou um sistema formal de classificação dividindo os organismos vivos em dois reinos – *Plantae* e *Animalia*. Ele utilizou nomes em latim para estabelecer uma "linguagem" comum para a sistemática. Contudo, à medida que as ciências biológicas se desenvolveram, os biólogos começaram a procurar por um sistema de classificação *natural* – um sistema que agrupasse os organismos com base nas suas relações ancestrais e permitisse ver a organização da vida. Em 1857, Carl Von Nägeli, um contemporâneo de Pasteur, propôs que as bactérias e os fungos fossem colocados no reino das plantas. Em 1866, Ernest Haeckel propôs o reino *Protista* para incluir bactérias, protozoários, algas e fungos. Devido às discordâncias sobre a definição de protista, durante os 100 anos seguintes, os biólogos continuaram a seguir a classificação de von Nägeli, que colocava as bactérias e os fungos no reino das plantas. É irônico que o sequenciamento recente do DNA tenha posicionado os fungos mais próximos dos animais do que das plantas. Os fungos foram classificados em seu próprio reino em 1959.

Com o advento da microscopia eletrônica, as diferenças físicas entre as células ficaram evidentes. O termo *procarioto* foi introduzido em 1937 por Edward Chatton para distinguir as células sem núcleo das células nucleadas das plantas e dos animais. Em 1961, Roger Stanier apresentou a definição atual dos procariotos: células nas quais o material nuclear (nucleoplasma) não é envolto por uma membrana nuclear. Em 1968, Robert G. E. Murray propôs o Reino *Prokaryotae*.

Em 1969, Robert H. Whittaker criou o sistema de cinco reinos, no qual os procariotos foram colocados no Reino *Prokaryotae*, ou *Monera*, e os eucariotos constituíram os outros quatro reinos. O Reino *Prokaryotae* foi criado com base em observações microscópicas. Posteriormente, novas técnicas de biologia molecular revelaram que existem na realidade dois tipos de células procarióticas e um tipo de célula eucariótica.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é o valor da taxonomia e da sistemática? **10-1**

✓ Por que as bactérias não podem ser colocadas no reino das plantas? **10-2, 10-3**

Os três domínios

A descoberta de três tipos de células teve como base a observação de que os ribossomos não são os mesmos em todas as células (veja o Capítulo 4, página 95). Os ribossomos fornecem um método de comparação celular, pois estão presentes em todas as células. A comparação das sequências de nucleotídeos no RNA ribossômico (rRNA) (veja a página 292) de diferentes tipos de células mostrou que há três grupos celulares diferentes: os eucariotos e dois tipos diferentes de procariotos – as bactérias e as arquibactérias.

Em 1978, Carl R. Woese propôs elevar os três tipos de células para um nível acima de reino, chamado de domínio. Woese acreditava que as arquibactérias e as bactérias, embora similares em aparência, deveriam formar seus próprios domínios separados na árvore evolutiva (**Figura 10.1**). Os organismos são classificados pelo tipo de células nos três domínios. Além das diferenças no rRNA, os três domínios diferem na estrutura lipídica da membrana, nas moléculas de RNA de transferência e na sensibilidade aos antibióticos (**Tabela 10.1**).

Neste esquema amplamente aceito, animais, plantas, fungos e protistas são reinos do domínio ***Eukarya***. O domínio ***Bacteria*** inclui todos os procariotos patogênicos, assim como muitos dos procariotos não patogênicos encontrados no solo e na água. Os procariotos fotoautotróficos também estão nesse domínio. O domínio ***Archaea*** inclui procariotos que não têm peptideoglicana nas suas paredes celulares e que frequentemente vivem em ambientes extremos e realizam processos metabólicos incomuns. *Archaea* inclui três grupos principais:

1. Os metanógenos, anaeróbicos restritos que produzem metano (CH_4) a partir de dióxido de carbono e hidrogênio.

Figura 10.1

FIGURA FUNDAMENTAL Sistema de três domínios

Esta figura mostra as relações entre os organismos vivos. As linhas mostram como cada grupo descende dos seus ancestrais. Os fundamentos da classificação e da taxonomia são necessários para entender a suscetibilidade dos diferentes micro-organismos a vários métodos de controle, como discutido nos Capítulos 7 e 20.

Todos os organismos são provenientes de células formadas há cerca de 3,5 bilhões de anos. O DNA transmitido a partir dos ancestrais é descrito como conservado. O domínio *Eukarya* inclui os reinos *Fungi*, *Plantae* e *Animalia*. Também inclui os protistas, discutidos na página 281.

Conceito-chave

Com base nas similaridades do RNA ribossômico, os organismos vivos são classificados em três domínios: *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*.

2. Os halófilos extremos, que requerem altas concentrações de sais para sobreviver.
3. Os hipertermófilos, que normalmente crescem em ambientes quentes.

A relação evolutiva entre os três domínios é assunto da pesquisa atual dos biólogos. Originalmente, achava-se que as arquibactérias eram o grupo mais primitivo, enquanto as bactérias foram tidas como mais relacionadas aos eucariotos. Contudo, estudos de rRNA indicam que o ancestral universal dividiu-se em três linhagens. Essa divisão levou a *Archaea, Bacteria* e ao que finalmente tornou-se o nucleoplasma dos eucariotos. Os fósseis mais antigos conhecidos são os restos de procariotos que viveram há mais de 3,5 bilhões de anos. As células eucarióticas evoluíram mais recentemente, em torno de 1,4 bilhão de anos. De acordo com a teoria endossimbiótica, as células eucarióticas evoluíram a partir de células procarióticas vivendo uma dentro da outra, como endossimbiontes (veja o Capítulo 4, página 106). Na verdade, as similaridades entre as células procarióticas e as organelas eucarióticas fornecem evidências fortes a favor dessa relação endossimbiótica (Tabela 10.2).

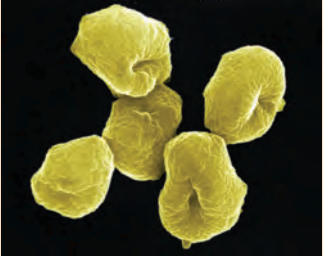
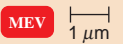
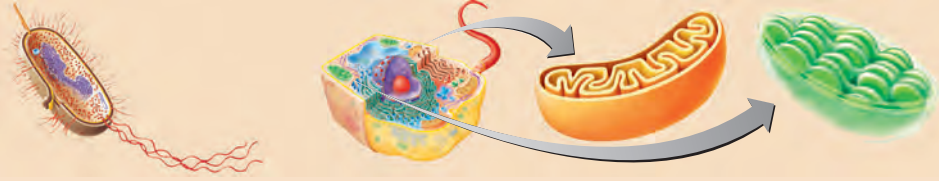



Tabela 10.1 Algumas características de *Archaea*, *Bacteria* e *Eukarya*

	Archaea	*Bacteria*	*Eukarya*
	Sulfolobus MEV 0,5 μm	*E. coli* MEV 1 μm	*Amoeba* MEV 10 μm
Tipo de célula	Procariótica	Procariótica	Eucariótica
Parede celular	Varia na composição; não contém peptideoglicana	Contém peptideoglicana	Varia na composição; contém carboidratos
Lipídeos de membrana	Compostos de cadeias de carbono ramificadas ligadas ao glicerol por ligação éter	Compostos de cadeias de carbono lineares ligadas ao glicerol por ligação éster	Compostos de cadeias de carbono lineares ligadas ao glicerol por ligação éster
Primeiro aminoácido na síntese de proteínas	Metionina	Formilmetionina	Metionina
Sensibilidade a antibióticos	Não	Sim	Não
Alça do rRNA*	Ausente	Presente	Ausente
Braço comum do tRNA**	Ausente	Presente	Presente

* Liga-se à proteína ribossomal; encontrada em todas as bactérias.
** Uma sequência de bases no tRNA encontrada em todos os eucariotos e bactérias: guanina-timina-pseudouridina-citosina-guanina.

Tabela 10.2 Comparação de células procarióticas e eucarióticas

	Célula procariótica	**Célula eucariótica**	**Organelas eucarióticas (mitocôndrias e cloroplastos)**
DNA	Um circular; algumas vezes dois circulares; alguns lineares	Linear	Circular
Histonas	Em arquibactérias	Sim	Não
Primeiro aminoácido na síntese de proteína	Formilmetionia (bactéria) Metionina (arquibactéria)	Metionina	Formilmetionina
Ribossomos	70S	80S	70S
Crescimento	Fissão binária	Mitose	Fissão binária

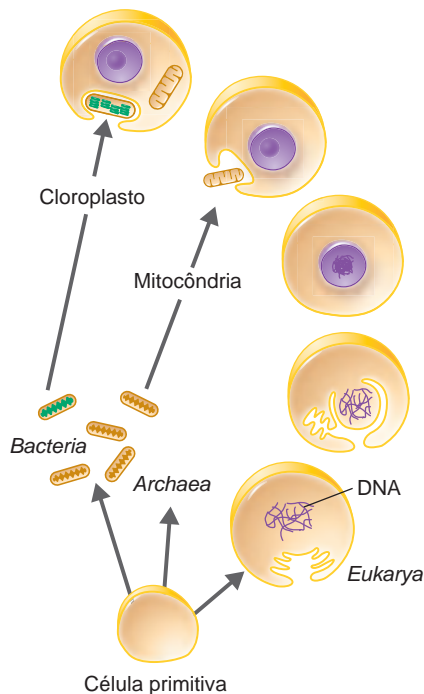



Figura 10.2 Um modelo da origem dos eucariotos. Uma invaginação da membrana plasmática pode ter formado o envelope nuclear e o retículo endoplasmático. Similaridades, incluindo as sequências de rRNA, indicam que procariotos endossimbióticos originaram as mitocôndrias e os cloroplastos.

P Quantas membranas compõem o envelope nuclear de uma célula eucariótica?

A célula nucleoplásmica original era procariótica. Contudo, dobraduras em sua membrana plasmática podem ter envolvido a região nuclear para produzir o verdadeiro núcleo (**Figura 10.2**). Recentemente, pesquisadores franceses deram suporte a esta hipótese com suas observações de um verdadeiro núcleo na bactéria *Gemmata* (veja a Figura 11.23). Ao longo do tempo, o cromossomo do nucleoplasma pode ter adquirido peças como os transposons (página 237). Em algumas células, este grande cromossomo pode ter se fragmentado em cromossomos lineares menores. Talvez células com cromossomos lineares tivessem uma vantagem na divisão celular em relação àquelas com um cromossomo circular grande de difícil manutenção.

Essa célula nucleoplásmica forneceu o hospedeiro original no qual bactérias endossimbióticas desenvolveram-se em organelas (veja a página 106). Um exemplo de procariotos atuais vivendo dentro de uma célula eucariótica é mostrado na **Figura 10.3**. A célula tipo cianobactéria e o hospedeiro eucariótico necessitam um do outro para sobreviverem.

No sequenciamento do genoma de um procarioto chamado de *Thermotoga maritima*, a microbiologista Karen Nelson descobriu que essa espécie tem genes similares aos membros tanto do domínio *Bacteria* como do domínio *Archaea*. Seu achado sugere que *Thermotoga* seja uma das primeiras células. Por essa razão, *Thermotoga* é referido como um "gênero de ramificação muito antiga", ou seja, ele está próximo da origem ou "raiz" da árvore evolutiva.

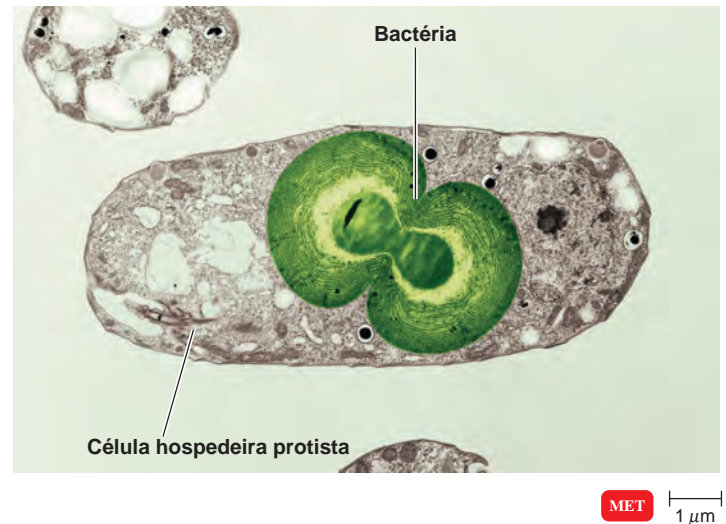



Figura 10.3 ***Cyanophora paradoxa.*** Este organismo, no qual o hospedeiro eucariótico e a bactéria necessitam um do outro para sobrevivência, fornece um exemplo atual de como as células eucarióticas podem ter evoluído.

P Quais aspectos os cloroplastos, as mitocôndrias e as bactérias têm em comum?

A taxonomia fornece ferramentas para esclarecer a evolução dos organismos, assim como suas relações. Novos organismos estão sendo descobertos a cada dia, e os taxonomistas continuam procurando um sistema natural de classificação que reflita as relações filogenéticas.

A hierarquia filogenética

Na hierarquia filogenética, reagrupar os organismos de acordo com as propriedades comuns implica que um grupo de organismos evolui a partir de um ancestral comum; cada espécie mantém algumas das características do ancestral. Uma parte da informação utilizada para classificar e determinar as relações filogenéticas em organismos superiores vem dos fósseis. Ossos, conchas ou caules que contenham material mineral ou tenham deixado impressões na rocha que antes era lama são exemplos de fósseis.

As estruturas da maioria dos micro-organismos não são facilmente fossilizadas. Algumas exceções são as seguintes:

- Um protista marinho cujas colônias fossilizadas formam as White Cliffs em Dover, na Inglaterra.
- Os estromatólitos, os restos fossilizados de bactérias filamentosas e sedimentos que apareceram entre 0,5 e 2 bilhões de anos atrás (**Figura 10.4a** e **Figura 10.4b**).
- Fósseis semelhantes a cianobactérias encontrados em rochas na Austrália ocidental que possuem de 3,0 a 3,5 bilhões de anos. Acredita-se que sejam os mais velhos fósseis conhecidos. Alguns fósseis de procariotos são mostrados na **Figura 10.4c**.

Uma vez que não existem evidências de fósseis da maioria dos procariotos, sua filogenia deve estar baseada em outras evidências. Em uma exceção notável, os cientistas podem ter isolado bactérias

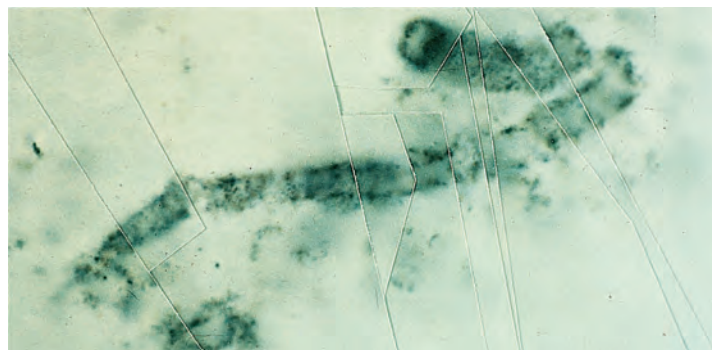



Figura 10.4 **Procariotos fossilizados** **(a)** Comunidades bacterianas formam pilares rochosos chamados de estromatólitos, que começaram a crescer há 3.000 anos. **(b)** Corte transversal de um estromatólito fossilizado que cresceu há dois bilhões de anos. **(c)** Procariotos filamentosos do início do período pré-cambriano (3,5 bilhões de anos) da Austrália ocidental.

P **Que evidência é usada para determinar a filogenia de procariotos?**

e leveduras vivas de 25 a 40 milhões de anos. Em 1995, o microbiologista americano Raul Cano e seus colegas relataram o crescimento de *Bacillus sphaericus* e de outros micro-organismos ainda não identificados que teriam sobrevivido em âmbar (resina de planta fossilizada) durante milhões de anos. Se for confirmado, essa descoberta deverá fornecer mais informações sobre a evolução dos micro-organismos.

Conclusões obtidas do sequenciamento de rRNA e de estudos de hibridização de DNA (discutidos na página 291) de ordens e famílias selecionadas de eucariotos estão de acordo com os registros de fósseis. Isso tem encorajado os pesquisadores a utilizar a hibridização de DNA e o sequenciamento de rRNA para compreender as relações evolutivas entre os grupos de procariotos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual evidência sustenta a classificação dos organismos em três domínios? **10-4**

✓ Compare *Archaea* e *Bacteria, Bacteria* e *Eukarya,* e *Archaea* e *Eukarya*. **10-5**

Classificação dos organismos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

10-6 Explicar por que nomes científicos são utilizados.

10-7 Listar os taxa mais importantes.

10-8 Diferenciar *cultura, clone* e *linhagem*.

10-9 Listar as principais características utilizadas para diferenciar os três Reinos de *Eukarya* multicelular.

10-10 Definir *protista*.

10-11 Diferenciar espécies eucarióticas, procarióticas e virais.

Os organismos vivos são agrupados de acordo com as características similares (classificação), e a cada organismo é atribuído um nome científico. As normas para classificação e denominação, utilizadas no mundo todo pelos biólogos, são discutidas a seguir.

Nomenclatura científica

Em um mundo habitado por milhões de organismos vivos, os biólogos devem ter certeza que conhecem exatamente o micro-organismo sobre o qual estão discutindo. Não podemos utilizar nomes comuns, porque muitas vezes o mesmo nome é utilizado para muitos organismos diferentes em locais diferentes. Por exemplo, existem dois organismos diferentes com o mesmo nome: musgo espanhol, sendo que nenhum deles é realmente um musgo. Além disso, idiomas locais são utilizados para nomes comuns. Como os nomes comuns podem induzir ao erro e estão em idiomas diferentes, um sistema de nomes científicos, denominado *nomenclatura científica*, foi desenvolvido no século XVIII.

Relembre do Capítulo 1 (página 2) que cada organismo recebe dois nomes, ou um binômio. Esses são o nome do **gênero** e o nome do **epíteto específico** (**espécie**), sendo que ambos são escritos sublinhados ou em itálico. O nome do gênero começa sempre com letra maiúscula e é sempre um substantivo. O nome da espécie começa com letra minúscula e geralmente é um adjetivo. Como esse sistema fornece dois nomes para cada organismo, ele é chamado de **nomenclatura binomial**.

Vamos considerar alguns exemplos. O nosso gênero e o nosso epíteto específico são *Homo sapiens*. O substantivo, ou gêne-

ro, significa homem; o adjetivo, ou epíteto específico, significa sábio. Um fungo que contamina o pão é chamado de *Rhizopus stonolifer*. *Rhizo* descreve a estrutura semelhante a raiz do fungo; *stolo* descreve as hifas longas. A Tabela 1.1 na página 4 contém mais exemplos.

Os binômios são utilizados por cientistas do mundo todo, independente de sua língua nativa, permitindo que eles compartilhem seu conhecimento de maneira eficiente e exata. Várias entidades científicas são responsáveis por estabelecer normas que governam a denominação dos organismos. As normas para a denominação de protozoários e vermes parasitas estão publicadas no *International Code of Zoological Nomenclature*. As normas para a denominação de fungos e algas estão publicadas no *International Code of Botanical Nomenclature*. As normas para a denominação de novos procariotos classificados e a atribuição de um táxon são estabelecidas pelo Comitê Internacional de Sistemática de Procariotos e estão publicadas no *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, antes de serem incorporadas em um livro de referência chamado de *Bergey's Manual.* De acordo com o *Bacteriological Code*, os nomes científicos devem ser derivados do latim (um nome de gênero também pode ser derivado do grego) ou latinizados pela adição de um sufixo apropriado. Os sufixos para ordem e família são *–ales* e *–aceae*, respectivamente.

À medida que novas técnicas de laboratório possibilitam uma caracterização mais detalhada dos micro-organismos, dois gêneros podem ser reclassificados em um único gênero, ou um gênero pode ser dividido em dois ou mais gêneros. Por exemplo, os gêneros *Diplococcus* e *Streptococcus* foram combinados em 1974; a única espécie de diplococo é agora chamada de *Streptococcus pneumoniae*. Em 1984, estudos de hibridização de DNA indicaram que *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus faecium* tinham um parentesco distante com as outras espécies de estreptococos; como consequência, um novo gênero chamado de *Enterococcus* foi criado e essas espécies foram renomeadas *E. faecalis* e *E. faecium*.

Em 2001, com base em estudos de hibridização DNA-DNA e de rRNA, algumas espécies de *Chlamydia* foram mudadas para um novo gênero, *Chlamydophila* (veja a página 292). Realizar uma transição para um novo nome pode gerar confusão, e por isso um nome antigo muitas vezes é escrito entre parênteses. Por exemplo, um médico procurando por uma informação sobre a causa dos sintomas parecidos com pneumonia (meliodose) em um paciente, poderá encontrar o nome da bactéria *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei.*

Obter o nome de um micro-organismo é importante para determinar qual tratamento usar; drogas antifúngicas não funcionarão contra bactérias, e drogas antibacterianas não funcionarão contra vírus.

A hierarquia taxonômica

Todos os organismos podem ser agrupados em uma série de subdivisões que formam uma hierarquia taxonômica. Linnaeus desenvolveu essa hierarquia para sua classificação das plantas e dos animais. Uma **espécie eucariótica** é um grupo de organismos intimamente relacionados que se reproduzem entre si. (Espécies bacterianas serão discutidas em breve.) Um gênero consiste em espécies que diferem entre si em certas características, mas são relacionadas pela descendência. Por exemplo, *Quercus*, o gênero do carvalho, consiste em todos os tipos de carvalho (carvalho branco, carvalho vermelho, carvalho veludo, e outros). Mesmo sabendo que cada espécie de carvalho difere das outras, elas são relacionadas geneticamente. Como um grupo de espécies forma um gênero, gêneros relacionados formam uma **família**. Um grupo de famílias similares forma uma **ordem**, e um grupo de ordens similares forma uma **classe**. Por sua vez, classes relacionadas formam um **filo**. Portanto, um organismo específico (ou espécie) tem um nome de gênero e um epíteto específico e pertence a uma família, uma ordem, uma classe e um filo.

Todos os filos ou divisões relacionadas entre si formam um **reino**, e os reinos relacionados são reagrupados em um **domínio** (**Figura 10.5**).

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Utilizando *Escherichia coli* e *Entamoeba coli* como exemplos, explique por que o nome do gênero deve sempre ser escrito por extenso na primeira citação. Por que o uso da nomenclatura binomial é preferível ao uso de nomes comuns? **10-6**
- ✓ Procure a bactéria gram-positiva *Staphylococcus* no Apêndice F. A qual bactéria esse gênero é mais relacionado: *Gemella* ou *Streptococcus*? **10-7**

Classificação dos procariotos

O esquema de classificação taxonômica dos procariotos é encontrado no *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, segunda edição (veja o Apêndice F). Os primeiros dois volumes foram publicados, com os três volumes restantes previstos para os próximos anos. No *Bergey's Manual*, os procariotos são divididos em dois domínios: *Bacteria* e *Archaea*. Cada domínio é divido em filos. Lembre que a classificação se baseia nas similaridades das sequências de nucleotídeos no rRNA. As classes são divididas em ordens; as ordens, em famílias; as famílias, em gêneros; e os gêneros, em espécies.

Uma espécie procariótica é definida de maneira diferente das espécies eucarióticas, que são um grupo de organismos intimamente relacionados que podem se reproduzir entre si. Diferente da reprodução dos organismos eucarióticos, a divisão celular das bactérias não é diretamente ligada à conjugação sexual, que não é frequente e não precisa ser sempre espécie-específica. Uma **espécie procariótica**, entretanto, é definida simplesmente como uma população de células com características similares. (Os tipos de características serão discutidos mais tarde neste capítulo.) Os membros de uma espécie bacteriana são essencialmente similares entre si, mas são distintos dos membros de outras espécies, em geral com base em várias características. Como você sabe, as bactérias que crescem em um tempo determinado em um meio são chamadas de cultura. Uma cultura pura frequentemente é um **clone**, ou seja, uma população de células derivada de uma única célula parental. Todas as células no clone devem ser idênticas. Contudo, em alguns casos, as culturas puras da mesma espécie não são idênticas em todas as características. Cada um desses grupos é denominado **linhagem**. As linhagens são identificadas por números, letras ou nomes que seguem o epíteto específico.

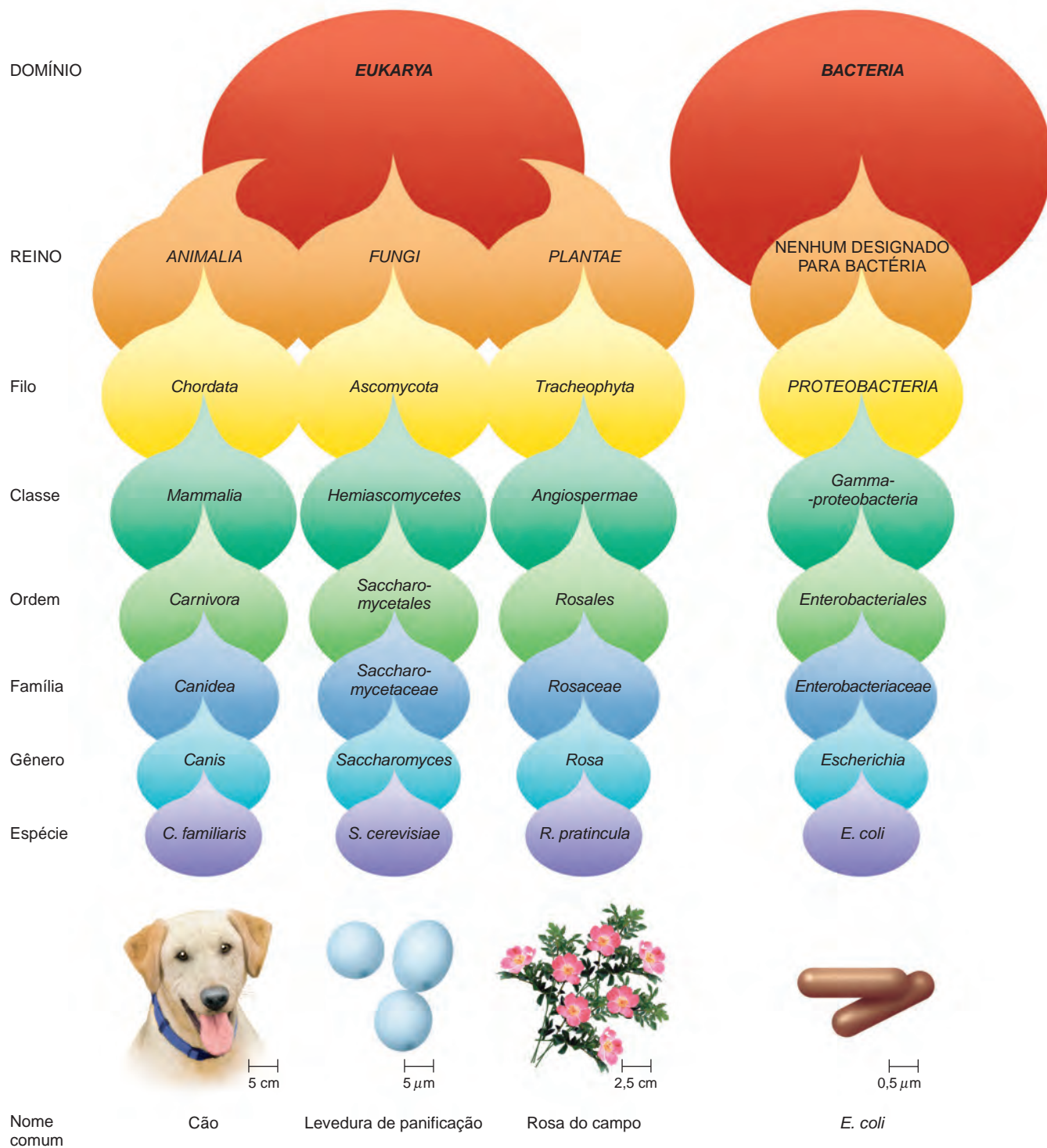



Figura 10.5 A hierarquia taxonômica. Os organismos são reagrupados de acordo com a proximidade de sua relação. Espécies que são intimamente relacionadas são reagrupadas no mesmo gênero. Por exemplo, a levedura de panificação pertence ao gênero que inclui também a levedura da massa azeda (*Saccharomyces exiguus*). Gêneros relacionados como *Saccharomyces* e *Candida* são colocados em uma família, e assim por diante. Cada grupo superior é mais abrangente. O domínio *Eukarya* inclui todos os organismos com células eucarióticas.

P Qual é a definição biológica de *família*?

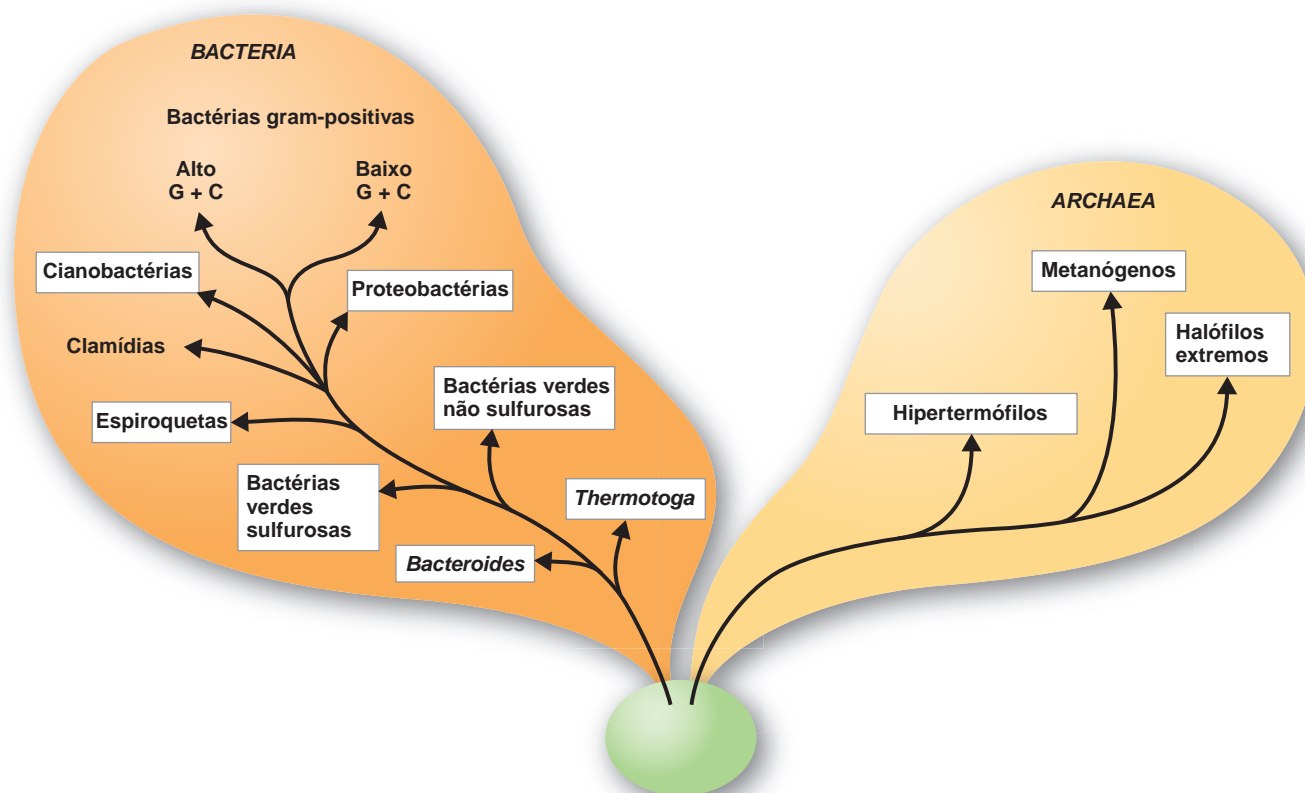



Figura 10.6 **Relações filogenéticas dos procariotos.** As setas indicam as linhas principais de descendência dos grupos bacterianos. Filos selecionados são indicados pelos quadros brancos.

P **Membros de qual filo podem ser identificados pela coloração de Gram?**

O *Bergey´s Manual* fornece uma referência para identificação de bactérias em laboratório, assim como um esquema de classificação para bactérias. Um esquema de relações evolutivas de bactérias é mostrado na **Figura 10.6**. As características utilizadas para classificar e identificar as bactérias são discutidas no Capítulo 11.

Classificação dos eucariotos

Alguns reinos no Domínio *Eukarya* são mostrados na Figura 10.1. Desde 1969, os organismos eucarióticos simples, a maioria unicelular, têm sido agrupados no Reino **Protista**, um reino que abriga uma variedade de organismos. Historicamente, os organismos eucarióticos que não se encaixavam em outros reinos eram colocados no *Protista*. Aproximadamente 200.000 espécies de protistas foram identificadas até agora, e esses organismos são bastante diversos do ponto de vista nutricional – desde fotossintético até parasita intracelular obrigatório. O sequenciamento do rRNA está tornando possível a divisão dos protistas em grupos com base em sua descendência a partir de ancestrais comuns. Consequentemente, uma vez classificados, os organismos são divididos em **clades,** ou seja, grupos relacionados geneticamente. Por conveniência, continuaremos a utilizar o termo protista para indicar eucariotos unicelulares e seus parentes próximos. Esses organismos serão discutidos no Capítulo 12.

Fungos, plantas e animais formam os três reinos de organismos eucarióticos mais complexos, sendo a maioria multicelular.

O Reino ***Fungi*** inclui as leveduras unicelulares, os bolores multicelulares e espécies macroscópicas como os cogumelos. Para obter matéria-prima para as funções vitais, um fungo absorve a matéria orgânica dissolvida através de sua membrana plasmática. As células de um fungo multicelular normalmente são unidas para formar tubos finos chamados de *hifas*. As hifas são divididas em unidades multinucleadas separadas por paredes transversais que possuem poros, de forma que o citoplasma possa fluir entre essas unidades similares a células. Os fungos se desenvolvem a partir de esporos ou de fragmentos de hifas (veja a Figura 12.1, página 331).

O Reino ***Plantae*** (plantas) inclui algumas algas e todos os musgos, samambaias, coníferas e plantas com flores. Todos os membros desse reino são multicelulares. Para obter energia, uma planta utili-

za a fotossíntese, o processo que converte o dióxido de carbono e a água em moléculas orgânicas utilizadas pela célula.

O reino dos organismos chamado de ***Animalia*** (animais) inclui esponjas, vários vermes, insetos e animais com esqueleto (vertebrados). Os animais obtêm nutrientes e energia pela ingestão de matéria orgânica por meio de algum tipo de boca.

Classificação dos vírus

Os vírus não são classificados como parte de nenhum dos três domínios. Eles não são compostos por células, e utilizam a maquinaria anabólica dentro da célula hospedeira para se multiplicar. O genoma viral pode direcionar a biossíntese no interior da célula hospedeira, e alguns genomas podem se incorporar ao genoma do hospedeiro. O nicho ecológico de um vírus é sua célula hospedeira específica, logo o vírus pode estar mais intimamente relacionado com seu hospedeiro do que com outros vírus. O *International Committee on Taxonomy of Virus* (Comitê Internacional em Taxonomia de Vírus) define uma **espécie viral** como uma população de vírus com características similares (incluindo morfologia, genes e enzimas) que ocupam um nicho ecológico específico.

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, ou seja, eles devem ter se desenvolvido assim que uma célula hospedeira adequada se desenvolveu. Existem duas hipóteses que tentam explicar a origem dos vírus: (1) eles surgiram de fitas de ácidos nucleicos de replicação independente (como os plasmídeos) e (2) eles se desenvolveram a partir de células degenerativas que, após muitas gerações, teriam perdido gradualmente sua capacidade de sobreviver de forma independente, mas que poderiam viver quando associadas a outras células. Os vírus serão discutidos no Capítulo 13.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✔ Utilize os termos espécie, cultura, clone e linhagem em uma sentença para descrever o crescimento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **10-8**
- ✔ Suponha que você descobriu um novo organismo; ele é multicelular, nucleado, heterotrófico e tem parede celular. A qual reino ele pertence? **10-9**
- ✔ Escreva sua própria definição de protista. **10-10**
- ✔ Por que a definição de uma espécie viral não serviria para uma espécie bacteriana? **10-11**

Métodos para classificação e identificação de micro-organismos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

10-12 Comparar e diferenciar classificações e identificações.

10-13 Explicar o propósito do *Bergey's Manual*.

10-14 Descrever como colorações e testes bioquímicos são utilizados para identificar bactérias.

10-15 Diferenciar *Western blotting* e *Southern blotting*.

10-16 Explicar como os testes sorológicos e a tipagem com fagos podem ser utilizados para identificar uma bactéria desconhecida.

10-17 Descrever como um micro-organismo recentemente descoberto pode ser classificado por composição de bases do DNA, *DNA fingerprinting* e PCR.

10-18 Descrever como os micro-organismos podem ser identificados por hibridização de ácidos nucleicos, *Southern blotting*, chips de DNA, ribotipagem e FISH.

10-19 Diferenciar chave dicotômica e cladograma.

Um esquema de classificação fornece uma lista de características e meios de comparação para ajudar na identificação de um organismo. Uma vez identificado, um organismo pode ser colocado em um esquema de classificação previamente definido. Os micro-organismos são *identificados* com propósitos práticos – por exemplo, para determinar um tratamento apropriado para uma infecção. Eles não são necessariamente identificados pelas mesmas técnicas pelas quais são *classificados*. A maioria dos procedimentos de identificação é facilmente realizada em um laboratório e utiliza o menor número possível de processos e testes. Os protozoários, os vermes parasitas e os fungos em geral podem ser identificados microscopicamente. A maioria dos organismos procarióticos não tem características morfológicas distintas ou até mesmo variações de tamanho e de forma. Consequentemente, os microbiologistas desenvolveram uma variedade de métodos que testam reações metabólicas e outras características que identificam os procariotos.

O *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* tem sido amplamente utilizado como referência desde a primeira edição, publicada em 1923. O microbiologista americano David Bergey foi o presidente do grupo que compilou as informações sobre bactérias conhecidas a partir de artigos publicados em jornais científicos. O *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9ª ed., 1994) não classifica as bactérias de acordo com a relação evolutiva, mas fornece esquemas de identificação com base em critérios como composição da parede celular, morfologia, coloração diferencial, necessidades de oxigênio e testes bioquímicos.* A maioria das *Bactérias* e *Arquibactérias* ainda não foi cultivada, e os cientistas estimam que somente 1% desses micro-organismos tenha sido descoberto.

A microbiologia médica (o ramo da microbiologia que trata de patógenos humanos) dominou o interesse em micro-organismos, e este interesse está refletido em muitos esquemas de identificação. Contudo, para colocar as propriedades patogênicas das bactérias em perspectiva, das mais de 2.600 espécies listadas nas *Approved Lists of Bacterial Names*, menos de 10% são patógenos humanos.

Discutiremos a seguir vários critérios e métodos para a classificação e a identificação rotineira dos micro-organismos. Além das propriedades do organismo em si, a fonte e o habitat do isolado bacteriano são considerados como parte do processo de identificação. Em microbiologia clínica, um médico coleta uma amostra de pus ou de superfície tecidual de um paciente. A amostra é introdu-

* Tanto o *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (veja a página 279) quanto o *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* são referidos simplesmente como *Bergey's Manual*; os títulos completos são utilizados quando a informação discutida se encontra em um, mas não no outro, por exemplo, uma tabela de identificação.

Mortalidade em massa de mamíferos marinhos preocupa a microbiologia veterinária

Nas últimas décadas, milhares de mamíferos marinhos morreram sem explicação ao redor do mundo. Essas mortes ocorrem em surtos de dúzias a milhares de mamíferos, e os microbiologistas tentam determinar a causa de cada surto. Em 2007, as mortes de leões-marinhos da Califórnia foram atribuídas à leptospirose, e doenças infecciosas como a toxoplasmose têm matado lontras marinhas da Califórnia em números crescentes. O declínio atual da população de lontras marinhas do Sul é o resultado de uma taxa de mortalidade de 40% decorrente de uma variedade de doenças infecciosas bacterianas. Esse aumento nos índices de mortalidade traz a preocupação de que populações inteiras de mamíferos marinhos possam ser destruídas.

Em 2007, a brucelose matou um golfinho Maui. Ainda mais preocupante é o fato de um grande número de patógenos oportunistas, incluindo 55 espécies de *Vibrio*, ter sido encontrado em golfinhos. Essas bactérias fazem parte da microbiota normal dos golfinhos e da biota das águas costeiras. Elas podem causar doença somente se o sistema imune do animal, sua defesa natural contra infecção, for enfraquecido. *Arcanobacterium phocae* é um patógeno oportunista que causa uma infecção grave em focas feridas.

O vírus da cinomose focina e o morbilivírus de cetáceo (CM) são responsáveis pela morte de 20.000 mamíferos marinhos nas águas europeias, e por episódios periódicos de mortes em golfinhos nariz de garrafa ao longo da costa Atlântica dos Estados Unidos. Evidências sugerem que baleias-piloto podem ser responsáveis pela transmissão do vírus CM para outras espécies em grandes extensões do oceano.

As informações são raras

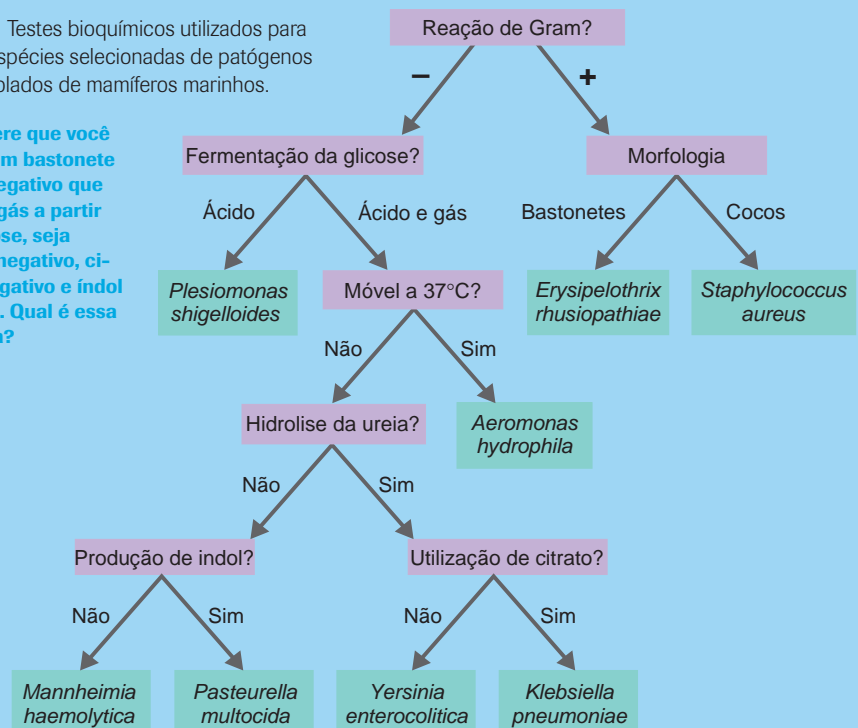
Tais perguntas são uma preocupação da microbiologia veterinária, que até recentemente era um ramo negligenciado da microbiologia médica. Enquanto as doenças de animais como gado, frangos e martas foram estudadas, em parte pela sua disponibilidade aos pesquisadores, a microbiologia dos animais selvagens, especialmente os mamíferos marinhos, é um campo relativamente emergente. Coletar amostras de animais que vivem em oceano aberto e realizar análises bacteriológicas é bastante difícil. Atualmente, os animais estudados são aqueles confinados (Figura A) ou que vêm à praia para reprodução, como os leões-marinhos do norte.

Os microbiologistas estão identificando as bactérias nos mamíferos marinhos utilizando baterias de testes convencionais (Figura B) e dados genômicos de espécies conhecidas. As bactérias são comparadas com espécies descritas no *Bergey's Manual*, para atribuir um nome a elas ou as identificar. Novas espécies de bactérias têm sido encontradas em mamíferos marinhos utilizando a técnica de FISH (veja a página 292).

Os microbiologistas veterinários esperam que o aumento dos estudos de microbiologia dos animais selvagens, incluindo os mamíferos marinhos, não somente promova uma melhoria no manejo da vida selvagem como também forneça modelos para o estudo de doenças humanas.

Figura A Pesquisadores de mamíferos marinhos examinam um golfinho nariz de garrafa.

Figura B Testes bioquímicos utilizados para identificar espécies selecionadas de patógenos humanos isolados de mamíferos marinhos.

P **Considere que você isolou um bastonete gram-negativo que produz gás a partir da glicose, seja urease negativo, citrato negativo e índol positivo. Qual é essa bactéria?**

REQUISIÇÃO MICROBIOLÓGICA	Data:	Hora:	Tira preparada por:
Lab: Data, hora recebida:	Nome do médico:	Coletado por:	RG do paciente:

NÃO ESCREVER ABAIXO DESTA LINHA

USE UMA TIRA PARA CADA REQUISIÇÃO

RESULTADO DA COLORAÇÃO DE GRAM
- ❑ COCOS GRAM-POSITIVOS, GRUPOS
- ❑ COCOS GRAM-POSITIVOS, PARES/CADEIAS
- ❑ BASTONETES GRAM--POSITIVOS
- ☒ COCOS GRAM-NEGATIVOS
- ❑ BASTONETES GRAM--NEGATIVOS
- ❑ COCOBACILOS GRAM--NEGATIVOS
- ❑ LEVEDURA
- ❑ OUTROS

- ❑ SEM CRESCIMENTO
- ❑ SEM CRESCIMENTO EM__DIAS
- ❑ MICROBIOTA MISTA
- ❑ AMOSTRA COLETADA OU TRANSPORTADA DE MANEIRA INCORRETA
- ❑ ___TIPOS DIFERENTES DE ORGANISMOS
- ❑ NEGATIVO PARA *SALMONELLA, SHIGELLA* E *CAMPYLOBACTER*
- ❑ OVOS, CISTOS OU PARASITAS NÃO VISUALIZADOS
- ☒ DIPLOCOCOS GRAM-NEGATIVOS, OXIDASE-POSIVIVOS
- ❑ PRESCRITIVO BETA STREP GRUPO A PELA BACITRALINA

ORIGEM DO ESPÉCIME
- ❑ SANGUE
- ❑ FLUIDO CEREBROSPINAL
- ❑ FLUIDO (especificar fonte)________
- ❑ GARGANTA
- ❑ ESCARRO, expectorado
- ❑ OUTRO, respiratório (descrever) __________________
- ❑ URINA, jato médio
- ❑ URINA, cateter de demora
- ❑ URINA, cateter reto
- ❑ URINA, primeira manhã inteira
- ❑ URINA, outros (descrever)________
- ❑ FEZES
- ☑ GU (especificar fonte) _vag._____
- ❑ ABSCESSO (especificar fonte) ________________________
- ❑ TECIDO (especificar fonte) ________
- ❑ ULCERAÇÃO (especificar fonte) _____
- ❑ FERIMENTO (especificar fonte) ______
- ❑ TESTE DE ESTERILIDADE

TESTE REQUISITADO

Bacteriano
- ❑ **Cultura de rotina;** coloração de Gram, cultura anaeróbica, teste de suscetibilidade Strep Gp. A para garganta.
- ❑ Cultura de *Legionella*
- ❑ *Bartonella*
- ❑ Hemocultura

Outras culturas não rotineiras
- ❑ *E. coli* O157:H7
- ❑ *Vibrio*
- ❑ *Yersinia*
- ☑ *H. ducreyi*
- ❑ *B. pertussis*
- ❑ Outros _______________

Culturas de triagem
- ☑ Gonococos
- ❑ Strep Grupo B
- ❑ Strep Grupo A
- ❑ Outros_______________

- ❑ **BACILOS ÁCIDO-ÁLCOOL RESISTENTES**

- ❑ **FÚNGICO**

VIRAL
- ❑ Cultura de rotina
- ❑ Herpes simples
- ❑ FA direta para __________

PARASITOLOGIA
- ❑ Exame para parasitas e ovos intestinais
- ❑ Imunoensaio para *Giardia*
- ❑ *Cryptosporidium*
- ❑ Prep. oxiúrio
- ❑ Hemoparasitas
- ❑ Concentração de filária
- ❑ *Trichomonas*
- ❑ Outros _______________

ENSAIO DE TOXINA
- ❑ *Clostridium difficile*

DIRETO (Detecção de antígenos)
- ❑ Somente antígeno criptocócico-CSF
- ❑ Antígenos bacterianos (especificar) _____________

ESPECIAL
- ☑ Teste de antimicrobianos (CIM)

Preenchido por uma pessoa — Preenchido por uma pessoa diferente

Figura 10.7 Formulário de relatório de laboratório de microbiologia clínica. Em instituições de saúde, morfologia e coloração diferencial são importantes na determinação do tratamento adequado para doenças microbianas. Um clínico completa o formulário para identificação da amostra e testes específicos. Nesse caso, uma amostra geniturinária será examinada para doenças sexualmente transmissíveis. As anotações em vermelho são as indicações do técnico de laboratório para a coloração de Gram e os resultados das culturas. (A concentração inibitória mínima [CIM] de antibióticos será discutida no Capítulo 20, página 572.)

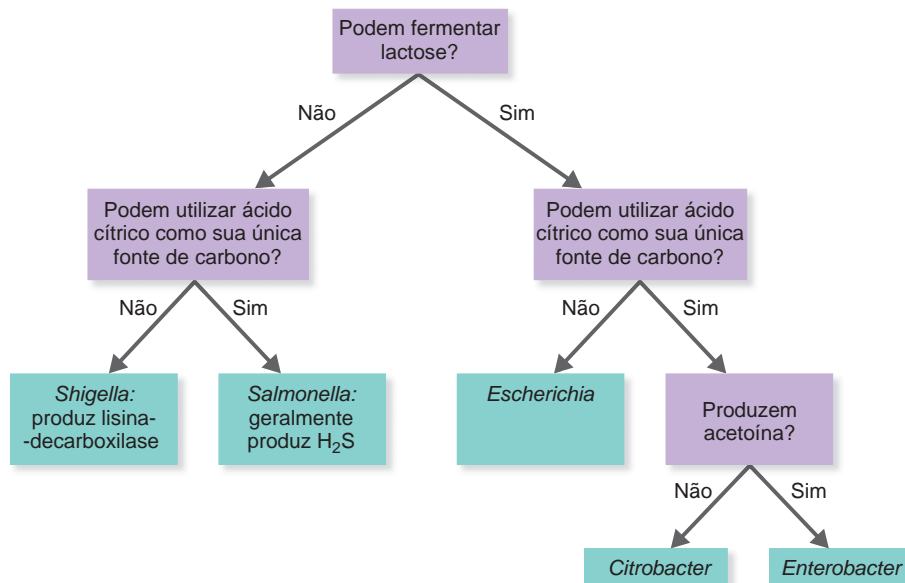
P Qual doença é suspeitada se o quadro de bacilos ácido-álcool resistentes é testado?

zida em um tubo para transporte. Os meios para transporte em geral não são nutritivos e são projetados para prolongar a viabilidade de patógenos fastidiosos. O médico anota o tipo de espécime e os testes requeridos em um formulário de requisição laboratorial (**Figura 10.7**). As informações fornecidas pelo técnico de laboratório ajudarão o médico a iniciar o tratamento (veja o quadro no Capítulo 5, página 144).

Características morfológicas

As características morfológicas (estruturais) têm auxiliado os taxonomistas na classificação de organismos nos últimos 200 anos. Os organismos superiores frequentemente são classificados de acordo com a observação de detalhes anatômicos. Contudo, muitos micro-organismos são muito semelhantes entre si para poderem ser classificados por suas estruturas. No microscópio, organismos que po-

Figura 10.8 Utilização de características metabólicas para identificar gêneros selecionados de bactérias entéricas.

P Considere que você tem uma bactéria gram--negativa que produz ácido a partir de lactose e não pode utilizar o ácido cítrico como única fonte de carbono. Qual é essa bactéria?

dem diferir quanto às suas propriedades metabólicas ou fisiológicas podem parecer iguais. Literalmente centenas de espécies bacterianas são pequenos bastonetes ou pequenos cocos.

P&R Contudo, um tamanho maior ou a presença de estruturas intracelulares nem sempre significa uma classificação fácil. A pneumonia por *Pneumocystis* é a infecção oportunista mais comum em pacientes com Aids. Até a epidemia de Aids, o agente responsável por essa infecção, *P. jirovecii* (anteriormente conhecido como *P. carinii),* raramente era visto em seres humanos. *Pneumocystis* não possui estruturas que podem ser facilmente utilizadas para identificação (veja a Figura 24.20, página 698), e sua posição taxonômica tem sido incerta desde a sua descoberta em 1909 por Carlos Chagas em camundongos. Embora tenha sido classificado como um protozoário, estudos recentes comparando a sequência de seu rRNA com a de outros protozoários, *Euglena*, fungos celulares gelatinosos, plantas, mamíferos e fungos mostraram que *Pneumocystis* é na realidade um membro do Reino *Fungi.* Pesquisadores cultivaram *Pneumocystis* e desenvolveram alguns tratamentos úteis para a pneumonia causada por ele. Se os pesquisadores considerarem o parentesco desse organismo com os fungos, tratamentos apropriados serão obtidos.

A morfologia celular nos diz pouco sobre as relações filogenéticas. Contudo, as características ainda auxiliam na identificação de bactérias. Por exemplo, diferenças em estruturas como os endosporos ou os flagelos podem ser úteis.

Coloração diferencial

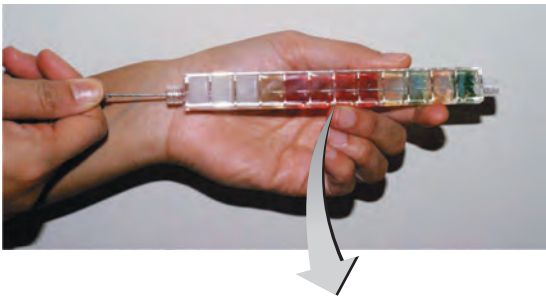
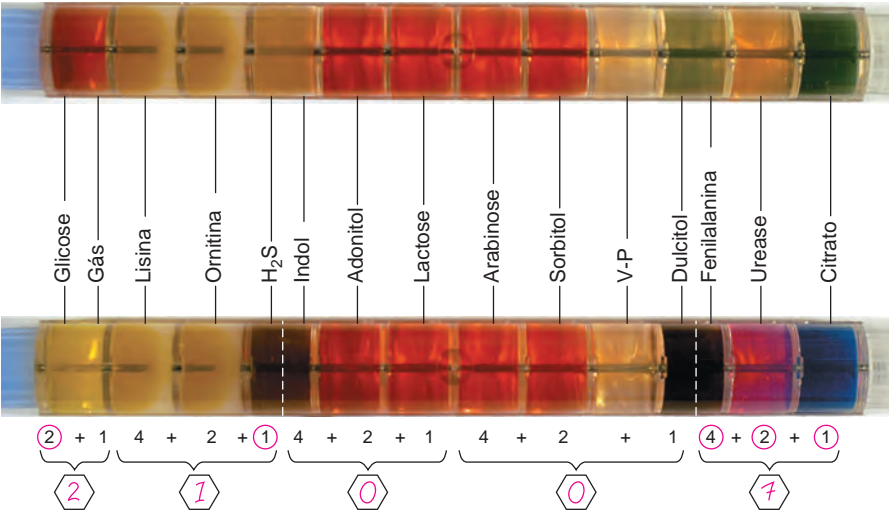
Relembre do Capítulo 3 que um dos primeiros passos para identificar bactérias é a coloração diferencial. A maioria das bactérias é gram-positiva ou gram-negativa. Outras colorações diferenciais, como a coloração ácido-álcool resistente, podem ser úteis para um grupo mais limitado de micro-organismos. Lembre-se de que essas colorações têm como base a composição química das paredes celulares e, portanto, não são úteis para as bactérias sem paredes ou para as arquibactérias com paredes incomuns. O exame microscópico de uma coloração de Gram ou de uma coloração ácido-álcool resistente é utilizado para obter informações rápidas no ambiente clínico.

Testes bioquímicos

As atividades enzimáticas são amplamente utilizadas para diferenciar as bactérias. Mesmo bactérias intimamente relacionadas em geral podem ser separadas em espécies distintas após serem submetidas a testes bioquímicos, como a determinação da capacidade de fermentar um conjunto de carboidratos selecionados. Como um exemplo da utilização de testes bioquímicos para identificar bactérias (nesse caso, em mamíferos marinhos), veja o quadro na página 283. Além disso, os testes bioquímicos podem fornecer informações sobre o nicho da espécie no ecossistema. Por exemplo, uma bactéria que possa fixar o gás nitrogênio ou oxidar o enxofre elementar fornecerá nutrientes importantes para plantas e animais. Isso será discutido no Capítulo 27.

As bactérias gram-negativas entéricas são um grupo amplo e heterogêneo de micro-organismos cujo habitat natural é o trato intestinal de humanos e de outros animais. Essa família contém muitos patógenos que causam doenças diarreicas. Vários testes foram desenvolvidos para que os técnicos identifiquem rapidamente os patógenos, os médicos forneçam um tratamento apropriado e os epidemiologistas localizem a fonte da doença. Todos os membros da família *Enterobacteriaceae* são oxidase-negativos. Entre as bactérias entéricas estão membros dos gêneros *Escherichia, Enterobacter, Shigella, Citrobacter* e *Salmonella*. *Escherichia, Enterobacter* e *Citrobacter*, que podem fermentar a lactose para produzir ácido e gás, podem ser diferenciados de *Salmonella* e *Shigella*, que não podem. Outros testes bioquímicos, como mostrado na **Figura 10.8**, podem diferenciar os gêneros.

O tempo necessário para identificar bactérias pode ser reduzido consideravelmente com a utilização de meios seletivos e diferenciais ou métodos rápidos de identificação. Lembre-se do Capítulo 6 (página 168) que os meios seletivos contêm ingredientes que inibem o crescimento de organismos competidores e favorecem o

1 Um tubo contendo meio para 15 testes bioquímicos é inoculado com uma bactéria entérica desconhecida.

2 Após incubação, é feita a leitura dos resultados.

3 O valor para cada teste positivo é circulado, e os números de cada grupo de testes são somados para fornecerem o código numérico ID.

4 A comparação do código ID com uma lista de nomes computadorizada mostra que o organismo é *Proteus mirabilis*.

Código ID	Organismo	Resultados atípicos	Teste confirmatório
21006	*Proteus mirabilis*	Ornitina⁻	Sacarose
21007	*Proteus mirabilis*	Ornitina⁻	
21020	*Salmonella choleraesuis*	Lisina⁻	

Figura 10.9 Tipo de método de identificação rápida para bactérias: Enterotubo II da Becton Dickinson. Este exemplo mostra os resultados para uma linhagem típica de *P. mirabilis*; contudo, outras linhagens podem produzir resultados diferentes para os testes que estão listados na coluna de Resultados Atípicos. O teste V-P é utilizado para confirmar uma identificação.

P Como uma espécie pode ter dois códigos ID diferentes?

crescimento dos organismos de interesse, e os meios diferenciais permitem que o micro-organismo desejado forme uma colônia que pode ser distinguida.

O *Bergey´s Manual* não avalia a importância relativa de cada teste bioquímico e não descreve sempre as linhagens. Ao diagnosticar uma infecção, o médico deve identificar uma espécie em particular e até uma linhagem específica para prosseguir com o tratamento apropriado. Para isso, séries específicas de testes bioquímicos foram desenvolvidas para a identificação rápida em laboratórios hospitalares. Sistemas de testes rápidos foram desenvolvidos para leveduras e outros fungos, assim como para bactérias.

Métodos rápidos de identificação são produzidos para grupos de bactérias de importância médica, como as entéricas. Tais ferramentas são projetadas para realizar vários testes bioquímicos simultaneamente e podem identificar bactérias em 4 a 24 horas. Isso algumas vezes é chamado de **identificação numérica** porque os resultados de cada teste correspondem a um número. Na forma mais simples, a um teste positivo pode ser dado o valor 1 e a um teste negativo, o valor 0. Na maioria dos kits comerciais de testes, os resultados correspondem a números na faixa de 1 a 4, com base na confiabilidade e importância relativa de cada teste, e o resultado total é comparado com um banco de dados de organismos conhecidos.

No exemplo mostrado na **Figura 10.9**, uma bactéria entérica desconhecida é inoculada em um tubo projetado para realizar 15 testes bioquímicos. Após incubação, os resultados em cada compartimento são registrados. Observe que para cada resultado é de-

(a) Teste positivo (b) Teste negativo

Figura 10.10 Um teste de aglutinação em lâmina. **(a)** Em um teste positivo, a aparência granulada se deve ao agrupamento (aglutinação) de bactérias. **(b)** Em um teste negativo, as bactérias ainda estão distribuídas de maneira homogênea em salina e antissoro.

P A aglutinação ocorre quando as bactérias são misturadas com ______.

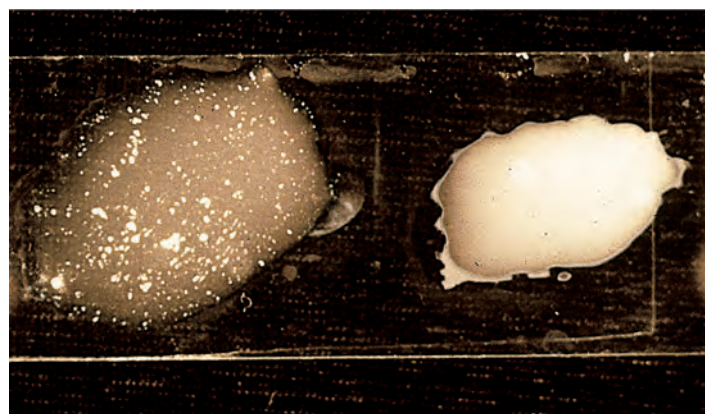
signado um valor; o número resultante da soma de todos os testes é chamado de código ID. A fermentação da glicose é importante, e para uma reação positiva é dado o valor 2, em comparação com a produção de acetoína (teste V-P, ou teste de Voges-Proskauer), que não tem valor.

Uma interpretação computadorizada dos resultados simultâneos dos testes é essencial e é fornecida pelo fabricante. Uma limitação dos testes bioquímicos é que as mutações e a aquisição de plasmídeos podem resultar em linhagens com características diferentes. A menos que um grande número de testes seja utilizado, um organismo pode ser identificado de maneira incorreta.

Sorologia

A **sorologia** é a ciência que estuda o soro e as respostas imunológicas que são evidenciadas no soro (veja o Capítulo 18). Os micro-organismos são antigênicos; ou seja, aqueles que entram no corpo animal estimulam a formação de anticorpos. Os anticorpos são proteínas que circulam no sangue e se combinam de maneira altamente específica com as bactérias que causaram a sua produção. Por exemplo, o sistema imune de um coelho inoculado com as bactérias mortas da febre tifoide (antígeno) responde com a produção de anticorpos contra as bactérias da tifoide. Soluções de tais anticorpos utilizadas para identificar muitos micro-organismos de importância médica estão disponíveis comercialmente; essa solução é chamada de **antissoro**. Se uma bactéria desconhecida é isolada de um paciente, ela pode ser testada com um antissoro conhecido e com frequência é identificada rapidamente.

Em um procedimento chamado de **teste de aglutinação em lâmina**, amostras de uma bactéria desconhecida são colocadas em uma gota de solução salina em várias lâminas. A seguir, diferentes antissoros conhecidos são adicionados a cada amostra. As bactérias aglutinam (agregam) quando misturadas com anticorpos que são produzidos em resposta a essa espécie ou linhagem de bactéria; um teste positivo é indicado pela presença de aglutinação. Testes de aglutinação em lâmina positivos e negativos são mostrados na Figura 10.10.

Os **testes sorológicos** podem diferenciar não somente espécies microbianas, mas também linhagens dentro de uma espécie. As linhagens com antígenos diferentes são chamadas de **sorotipos, sorovares** ou **biovares.** Veja a discussão sobre sorovares de *Escherichia* e *Salmonella* na página 310. Como mencionado no Capítulo 1, Rebecca Lancefield foi capaz de classificar os sorotipos dos estreptococos pelo estudo de suas reações sorológicas. Ela descobriu que os diferentes antígenos nas paredes celulares de vários sorotipos de estreptococos estimulam a formação de diferentes anticorpos. Por outro lado, como bactérias intimamente relacionadas produzem alguns dos mesmos antígenos, os testes sorológicos podem ser utilizados para triagem de isolados bacterianos pelas possíveis similaridades. Se um antissoro reage com as proteínas de diferentes espécies ou linhagens bacterianas, essas bactérias podem ser testadas posteriormente para outras similaridades.

O teste sorológico foi utilizado para determinar se o aumento no número de casos de fasciite necrosante nos Estados Unidos e na Inglaterra desde 1987 era devido a uma fonte comum de infecção. Nenhuma fonte comum foi encontrada, mas houve um aumento nos dois sorotipos de *Streptococcus pyogenes*, que foram denominados bactérias "comedoras de carne".

Um teste chamado de **imunoensaio enzimático (ELISA**, de *enzyme-linked immunosorbent assay*) é amplamente utilizado porque é rápido e pode ser lido por um computador (Figura 10.11; veja também a Figura 18.14, página 518). Em um ELISA direto, anticorpos conhecidos são colocados em canaletas de uma microplaca, e um tipo desconhecido de bactéria é adicionado a cada canaleta. A reação entre os anticorpos conhecidos e as bactérias fornece uma identificação das bactérias. Um ELISA é utilizado no diagnóstico de Aids para detectar a presença de anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o vírus que causa a Aids (veja a Figura 19.13, página 540).

Outro teste sorológico, o ***Western blotting***, é utilizado para identificar anticorpos no soro de um paciente (Figura 10.12). A infecção por HIV é confirmada pelo *Western blotting*, e a doença de Lyme, causada por *Borrelia burgdorferi*, frequentemente é diagnosticada por *Western blot*.

1. Proteínas de uma bactéria ou vírus conhecido são separadas por uma corrente elétrica em uma eletroforese.
2. As proteínas são a seguir transferidas para um filtro por uma corrente elétrica.
3. O soro do paciente é lavado sobre o filtro. Se o paciente tiver anticorpos para uma das proteínas do filtro (nesse caso, proteínas de *Borrelia*), os anticorpos e as proteínas combinarão. Um soro anti-humano ligado a uma enzima é a seguir lavado sobre o filtro.
4. Isso será visualizado como uma banda colorida sobre o filtro após adição do substrato de enzima.

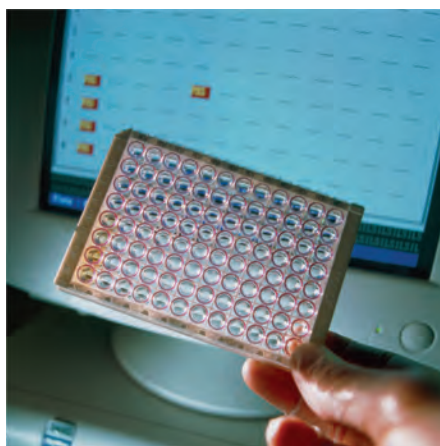
(a)

(b)

Figura 10.11 **Teste de ELISA.** **(a)** Um técnico utiliza uma micropipeta para adicionar as amostras em uma microplaca para ELISA. **(b)** Os resultados do ELISA são lidos pelo computador.

P **Quais são as similaridades entre o teste de aglutinação em lâmina e o teste de ELISA?**

Fagotipagem

Assim como o teste sorológico, a fagotipagem procura similaridades entre as bactérias. Ambas as técnicas são úteis em localizar a origem e seguir o curso do surto de uma doença. A **fagotipagem** é um teste para determinar a qual fago uma bactéria é suscetível. Lembre-se do Capítulo 8 (página 237) que os bacteriófagos (fagos) são vírus bacterianos que geralmente causam a lise das células bacterianas infectadas por eles. São altamente especializados, pois infectam somente membros de uma espécie particular, ou mesmo linhagens particulares dentro de uma espécie. Uma linhagem bacteriana pode ser suscetível a dois fagos diferentes, enquanto outra linhagem da mesma espécie pode ser suscetível a esses dois fagos mais um terceiro. Os bacteriófagos serão discutidos no Capítulo 13.

As fontes de infecções associadas a alimentos podem ser seguidas por fagotipagem. Uma versão desse procedimento começa com uma placa totalmente recoberta por bactérias crescendo em ágar. Uma gota de cada tipo diferente de fago é colocada sobre a bactéria. Se os fagos forem capazes de infectar e lisar as células bacterianas, ocorrerá falha do crescimento bacteriano (chamada de placa de lise) (**Figura 10.13**). Esse teste mostra, por exemplo, que bactérias isoladas de um corte cirúrgico têm o mesmo perfil de sensibilidade ao fago que aquelas isoladas do cirurgião ou das enfermeiras. Esse resultado estabelece que o cirurgião ou a enfermeira é a fonte da infecção.

Perfil de ácidos graxos

As bactérias sintetizam uma ampla variedade de ácidos graxos, e em geral eles são constantes para uma espécie em particular. Sistemas comerciais têm sido projetados para separar os ácidos graxos celulares e os comparar com o perfil de ácidos graxos de organismos conhecidos. Perfis de ácidos graxos, chamados de **FAME** (*fatty acid methyl ester*), são amplamente utilizados em laboratórios clínicos e de saúde pública.

Citometria de fluxo

A **citometria de fluxo** pode ser utilizada para identificar bactérias em uma amostra sem a necessidade de cultivo. Em um *citômetro de fluxo*, um fluido em movimento contendo as bactérias é pressionado através de uma pequena abertura (veja a Figura 18.12, página 516). O método mais simples detecta a presença das bactérias pela diferença da condutividade elétrica entre as células e o meio ambiente. Se o fluido passando através da abertura é iluminado por um *laser*, a dispersão da luz fornece informações sobre o tamanho, a forma, a densidade e a superfície da célula, que serão analisadas por um computador. A fluorescência pode ser utilizada para detectar células naturalmente fluorescentes, como *Pseudomonas*, ou células marcadas com corantes fluorescentes.

O leite pode ser um veículo de transmissão de doenças. Um teste que utilize a citometria de fluxo para detectar *Listeria* no leite poderia economizar tempo, uma vez que a bactéria não precisaria ser cultivada para identificação. Os anticorpos contra *Listeria* podem ser marcados com um corante fluorescente e adicionados ao leite a ser testado. O leite é passado através do citômetro de fluxo, que registra a fluorescência das células marcadas com anticorpos.

Composição de bases do DNA

Os taxonomistas podem utilizar a **composição de bases do DNA** de um organismo para tirar conclusões sobre parentesco. Essa composição de bases geralmente é expressa como a porcentagem de guanina mais citosina (G + C). A composição de bases de uma única espécie teoricamente é uma propriedade fixa; portanto, uma comparação do conteúdo G + C em diferentes espécies pode revelar seu grau de parentesco. Como vimos no Capítulo 8, cada guanina (G) no DNA tem uma citosina (C) complementar. De maneira similar, cada adenina (A) no DNA tem uma timina (T) complementar. Portanto, a porcentagem de bases de DNA que são pares GC nos fornece a porcentagem de pares AT (GC + AT = 100%). Dois orga-

Figura 10.12 ***Western blot.*** As proteínas separadas por eletroforese podem ser detectadas por suas reações com os anticorpos.

P Dê o nome de duas doenças que podem ser diagnosticadas por *Western blotting*.

nismos que são intimamente relacionados e, portanto, têm muitos genes idênticos ou similares terão quantidades similares de várias bases de seu DNA. Contudo, se há uma diferença de mais de 10% na sua porcentagem de pares de GC (p. ex., se o DNA de uma bactéria contém 40% de GC e o de outra tem 60% de GC), então esses dois organismos provavelmente não são relacionados. É claro que dois organismos que tenham a mesma porcentagem de GC não necessariamente são intimamente relacionados; outros dados são necessários para se tirar conclusões sobre suas relações filogenéticas.

Fingerprinting de DNA

Na verdade, determinar a sequência inteira de bases do DNA de um organismo agora é possível com métodos bioquímicos modernos, mas isso é impraticável para a identificação laboratorial

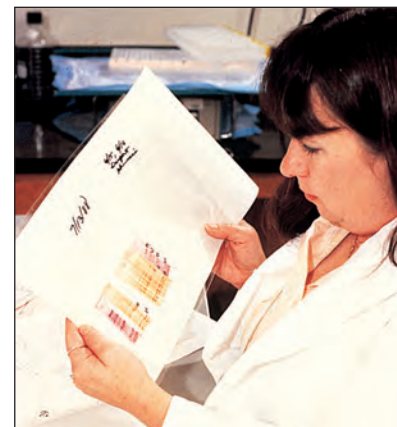
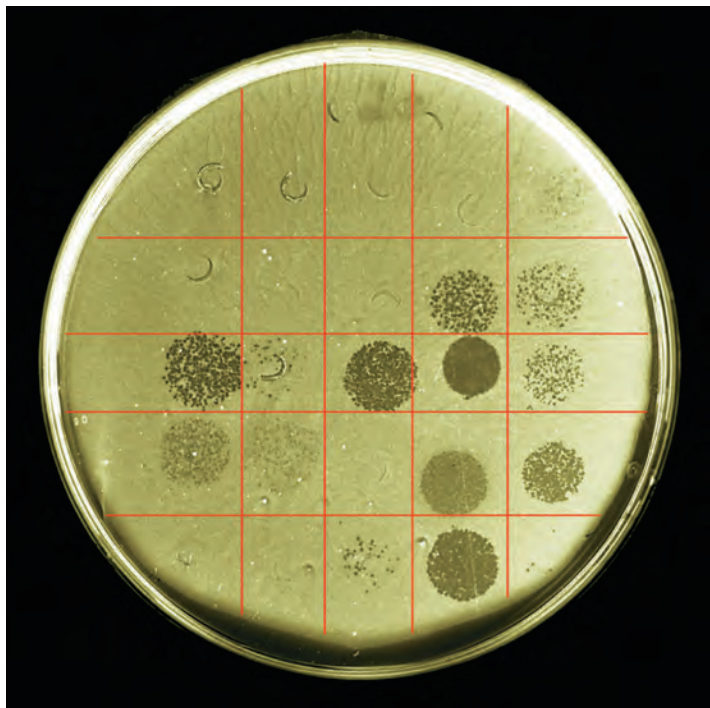



Figura 10.13 Fagotipagem de uma linhagem de *Salmonella enterica*. A linhagem testada foi cultivada por toda a placa. Falhas, ou áreas de lise, foram produzidas pelos bacteriófagos, indicando que a linhagem era sensível à infecção por esses fagos. A fagotipagem é utilizada para distinguir sorotipos de *S. enterica* e tipos de *Staphylococcus aureus*.

P O que é identificado na fagotipagem?

Figura 10.14 *Fingerprinting* de DNA. Os plasmídeos de sete bactérias diferentes foram clivados com a mesma enzima de restrição. Cada produto de clivagem foi colocado em uma canaleta diferente (origem) do gel de agarose. Uma corrente elétrica foi aplicada a seguir no gel para separar os fragmentos por tamanho e carga elétrica. O DNA foi visualizado por coloração com brometo de etídio, que fica fluorescente sob luz ultravioleta. A comparação das canaletas mostra que nenhuma das amostras de DNA (e, portanto, nenhuma bactéria) é idêntica.

P O que é um RFLP?

por causa da grande quantidade de tempo necessário. Contudo, a utilização de enzimas de restrição permitiu aos pesquisadores comparar as sequências de bases de organismos diferentes. As enzimas de restrição cortam uma molécula de DNA cada vez que uma sequência de bases específica ocorre, produzindo fragmentos de restrição (como discutido no Capítulo 9, página 249). Por exemplo, a enzima *Eco*RI corta o DNA no local da seta na sequência

$$\ldots G^{\downarrow} A\ A\ T\ T\ C \ldots$$

$$\ldots C\ T\ T\ A\ A_{\uparrow} G \ldots$$

Nessa técnica, o DNA de dois organismos é tratado com a mesma enzima de restrição, e os fragmentos de restrição (RFLPs) produzidos são separados por eletroforese (veja a Figura 9.17, página 264). A comparação do número e do tamanho dos fragmentos de restrição produzidos pelos diferentes organismos fornece informações sobre suas similaridades e diferenças genéticas; quanto mais similares forem os perfis, ou o *fingerprinting* do DNA, mais intimamente relacionados deverão ser os organismos.

O ***fingerprinting* de DNA** é utilizado para determinar a fonte de infecções hospitalares. Em um hospital, pacientes submetidos à cirurgia de desvio de coronária desenvolveram infecções causadas por *Rhodococcus bronchialis*. O *fingerprinting* de DNA das bactérias dos pacientes e da bactéria isolada de uma das enfermeiras foi idêntico. O hospital foi então capaz de quebrar a cadeia de transmissão dessa infecção recomendando à enfermeira a utilização de técnicas de assepsia. O uso de *fingerprinting* de DNA para localizar a fonte de diarreia associada a tomate é descrito no quadro do Capítulo 25, na página 715.

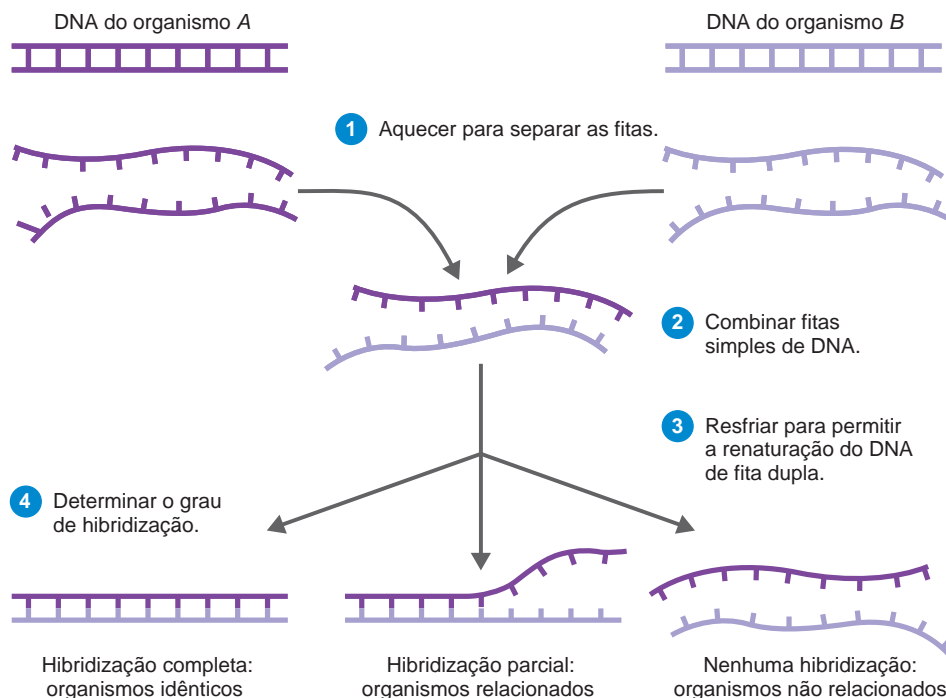
Reação em cadeia da polimerase

Quando um micro-organismo não pode ser cultivado por métodos convencionais, o agente responsável por uma doença infecciosa talvez não possa ser identificado. Contudo, uma técnica chamada de **reação em cadeia da polimerase** (**PCR**, de *Polymerase Chain Reaction*) pode ser utilizada para aumentar a quantidade de DNA microbiano em níveis que possam ser testados por eletroforese em gel (veja o Capítulo 9, página 251). Se um iniciador para um micro-organismo específico é utilizado, a presença de DNA amplificado indica que o micro-organismo está presente.

Em 1992, pesquisadores utilizaram a PCR para determinar o agente responsável pela doença de Whipple, que era uma bactéria previamente desconhecida, agora denominada *Tropheryma whipplei*. A doença de Whipple foi descrita em 1907, por George Whipple, como um distúrbio dos sistemas gastrintestinal e nervoso causado por um bacilo desconhecido. Ninguém foi capaz de cultivar a bactéria para permitir sua identificação, e assim a PCR fornece o único método confiável de diagnóstico e tratamento para esta doença.

Nos últimos anos, a PCR permitiu várias descobertas. Por exemplo, em 1992, Raul Cano utilizou a PCR para amplificar o DNA da bactéria *Bacillus* do âmbar, que tinha de 25 a 40 milhões

Figura 10.15 Hibridização DNA-DNA. Quanto maior a quantidade de pareamento entre as fitas de DNA de organismos diferentes (hibridização), mais intimamente relacionados estão os organismos.

P Qual é a base teórica das sondas de DNA?

de anos. Os iniciadores foram feitos a partir da sequência de rRNA de *B. circulans,* para amplificar o DNA que codifica o rRNA da bactéria no âmbar. Esses iniciadores vão amplificar o DNA de outras espécies de *Bacillus*, mas não amplificam o DNA de outras bactérias que poderiam estar presentes, como *Escherichia* ou *Pseudomonas*. O DNA foi sequenciado após amplificação. Essa informação foi utilizada para determinar as relações entre as bactérias antigas e as atuais.

Em 1993, os microbiologistas identificaram o *Hantavirus* como a causa de uma febre hemorrágica no sudoeste da América utilizando a PCR. A identificação foi feita em um tempo recorde – menos de duas semanas. A PCR foi utilizada em 1994 para identificar o agente responsável por uma nova doença transmitida por carrapatos (erliquiose granulocítica humana), a bactéria *Erlichia chaffeensis* (página 654). A PCR também é utilizada para identificar a fonte do vírus da raiva; veja o quadro no Capítulo 22 (página 625).

TaqMan é um sistema comercial que utiliza a PCR para identificar *E. coli* patogênica em alimentos e na água. Com esse sistema, o novo DNA amplificado de *E. coli* fluoresce e pode ser detectado por meio de eletroforese em gel.

Hibridização de ácidos nucleicos

Se uma molécula de fita dupla de DNA é exposta ao calor, as fitas complementares se separam assim que as ligações de hidrogênio se quebram. Se as fitas simples são então resfriadas lentamente, elas irão se unir novamente para formar uma molécula de fita dupla idêntica à fita dupla original. (Essa união ocorre porque as fitas simples têm sequências complementares.) Quando essa técnica é aplicada para separar fitas de DNA de dois organismos diferentes, é possível determinar a extensão de similaridade entre as sequências de bases dos dois organismos. Esse método é conhecido como **hibridização de ácidos nucleicos**. O procedimento considera que, se duas espécies são similares ou relacionadas, uma porção maior das sequências dos seus ácidos nucleicos também será similar. O método mede a habilidade das fitas de DNA de um organismo de hibridizar (ligar-se por pareamento de bases complementares) com as fitas de DNA de outro organismo (**Figura 10.15**). Quanto maior o grau de hibridização, maior o grau de parentesco.

Reações similares de hibridização podem ocorrer entre qualquer cadeia de fita simples de ácidos nucleicos: DNA-DNA, RNA-RNA, DNA-RNA. Um RNA transcrito irá hibridizar com o molde separado de DNA para formar uma molécula híbrida DNA-RNA. As reações de hibridização de ácidos nucleicos são a base de diversas técnicas (descritas a seguir) utilizadas para detectar a presença de micro-organismos e identificar organismos desconhecidos.

Southern blotting

A hibridização de ácidos nucleicos pode ser utilizada para identificar micro-organismos desconhecidos por ***Southern blotting*** (veja a Figura 9.16, página 263). Além disso, métodos rápidos de identificação utilizando **sondas de DNA** estão sendo desenvolvidos. Um dos métodos envolve a quebra de DNA extraído de *Salmonella* em fragmentos por uma enzima de restrição, e então selecionar um fragmento específico para ser a sonda de identificação da *Salmonella* (**Figura 10.16**). Esse fragmento deve ser capaz de hibridizar com o DNA de todas as linhagens de *Salmonella*, mas não com o DNA de outras bactérias entéricas relacionadas.

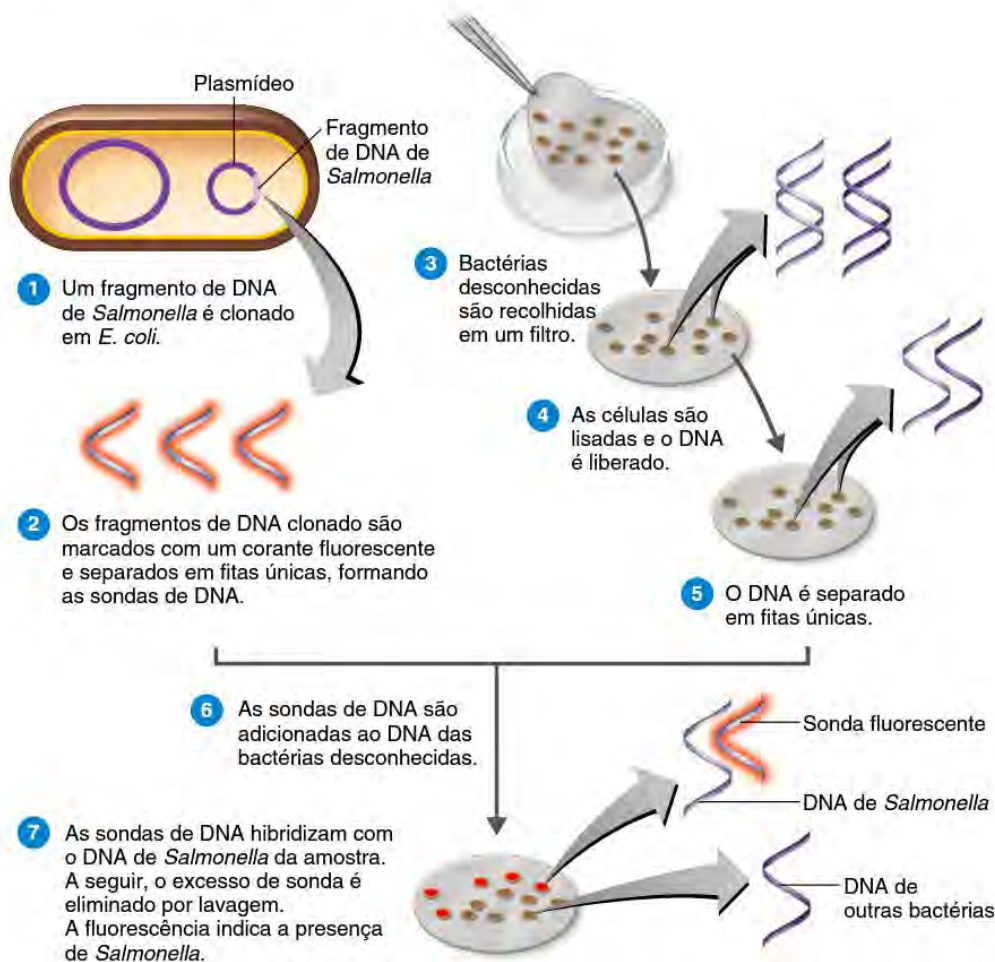



Figura 10.16 Sonda de DNA utilizada para a identificação de uma bactéria. O *Southern blotting* é utilizado para detectar um DNA específico. Essa modificação do *Southern bloting* é utilizada para detectar *Salmonella*.

P Por que a sonda de DNA e o DNA celular hibridizam?

Chips de DNA

Uma tecnologia nova e excitante é o **chip de DNA**, que permite detectar rapidamente um patógeno no hospedeiro pela identificação de um gene específico deste patógeno (Figura 10.17). O chip de DNA é composto de sondas de DNA. Uma amostra contendo DNA de um organismo desconhecido é marcada com um corante fluorescente e adicionada ao chip. A hibridização entre a sonda de DNA e o DNA na amostra é detectada por fluorescência.

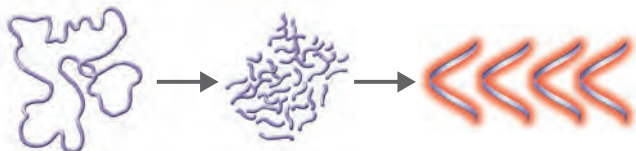
Ribotipagem e sequenciamento de RNA ribossômico

A **ribotipagem** atualmente é utilizada para determinar as relações filogenéticas entre os organismos. Existem várias vantagens de se usar o rRNA. Primeiro, todas as células contêm ribossomos. Segundo, genes de rRNA têm sofrido poucas mudanças ao longo do tempo, de modo que todos os membros de um domínio, filo e, em certos casos, gênero têm a mesma "assinatura" em termos de sequências do seu rRNA. O rRNA utilizado com mais frequência é um componente da menor porção dos ribossomos. Uma terceira vantagem do sequenciamento de rRNA é que as células não precisam ser cultivadas em laboratório.

O DNA pode ser amplificado por PCR utilizando um iniciador de RNA para as sequências específicas de assinatura. Os fragmentos amplificados são posteriormente cortados com uma ou mais enzimas de restrição e separados por eletroforese. Os perfis de bandas resultantes podem ser comparados. A seguir, os genes de rRNA nos fragmentos amplificados podem ser sequenciados para determinar as relações evolutivas entre os organismos. Essa técnica é útil para classificar um organismo recentemente descoberto com relação ao domínio ou filo, ou para determinar os tipos gerais de organismos presentes em um ambiente. Contudo, mais sondas específicas (veja a página 291) são necessárias para identificar espécies individuais.

Hibridização fluorescente *in situ* (FISH)

Sondas de RNA ou DNA marcadas com corante fluorescente são utilizadas para corar especificamente micro-organismos no local, *in situ*. Essa técnica é chamada de **hibridização fluorescente *in situ*** (**FISH**, de *fluorescent in situ hybridization*). As células são tratadas de maneira que a sonda entre na célula e reaja com o ribossomo-alvo na célula (*in situ*). A FISH é utilizada para determinar a identidade, a quantidade e a atividade relativa de micro-organismos em um ambiente, podendo ser utilizada também para detectar bactérias que ainda não foram cultivadas. Utilizando a FISH, uma bactéria minúscula, *Pelagibacter*, foi descoberta no oceano, estando

(a) Um chip de DNA pode ser fabricado para conter centenas de milhares de sequências de DNA de fitas simples sintéticas. Considere que cada sequência de DNA é exclusiva para um gene diferente.

(b) DNA desconhecido de um paciente é separado em fitas simples, cortado enzimaticamente e marcado com um corante fluorescente.

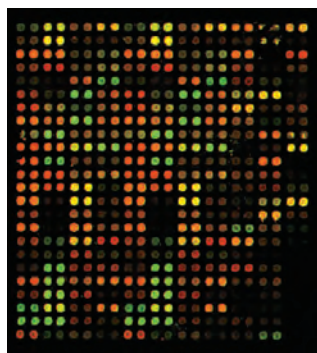
(c) O DNA desconhecido é inserido no chip e se hibridiza com o DNA no chip.

(d) O DNA marcado vai se ligar somente com o DNA complementar no chip. O DNA ligado vai ser detectado pela sua fluorescência e analisado por um computador. A luz vermelha é um gene expresso em células normais, a luz verde é um gene mutado expresso em células tumorais e a luz amarela, em ambas as células.

Figura 10.17 Tecnologia do chip de DNA. A tecnologia do chip de DNA possibilitará uma análise mais rápida e barata, utilizando muito mais sondas. A tecnologia do chip é nova; contudo, os cientistas esperam utilizar em breve os chips de DNA para detectar micro-organismos em amostras humanas ou ambientais, identificar genes tumorais, identificar suspeitos potenciais em um crime ou vítimas de um crime ou de uma catástrofe, identificar espécies em risco de extinção e encontrar doadores de órgão. Se o chip de DNA em **(d)** foi construído com DNA bacteriano diferente, cada ponto representaria uma bactéria, e os pontos apresentando luz fluorescente identificariam a bactéria na amostra.

P O que permite a especificidade do chip a uma bactéria em particular?

relacionada com as riquétsias (página 303). As sondas são desenvolvidas para que a FISH possa detectar bactérias em água potável ou em um paciente antes das 24 horas ou mais normalmente requeridas para o cultivo bacteriano (**Figura 10.18**).

Unindo os métodos de classificação

As características morfológicas, as colorações diferenciais e os testes bioquímicos eram as únicas ferramentas de identificação disponíveis até pouco tempo atrás. Avanços tecnológicos estão tornando possível a utilização das técnicas de análise de ácidos nucleicos, antes reservadas para a classificação, como rotina para identificação. Informações obtidas sobre micro-organismos são utilizadas para identificar e classificar os organismos. Dois métodos de utilização dessas informações são descritos a seguir.

Chaves dicotômicas

As **chaves dicotômicas** são amplamente utilizadas para identificação. Em uma chave dicotômica, a identificação tem como base perguntas sucessivas, e cada pergunta tem duas respostas possíveis (dicotômico significa cortado em dois). Após responder uma das questões, o pesquisador é direcionado à outra questão até que o organismo seja identificado. Embora essas chaves tenham pouco a ver com relações filogenéticas, elas são valiosas para a identificação. Por exemplo, a chave dicotômica para uma bactéria poderia começar com uma característica facilmente determinável, tal como a forma da célula, e ir para sua capacidade de fermentar um açúcar. As chaves dicotômicas são mostradas na Figura 10.8 e no quadro da página 283.

Cladogramas

Os **cladogramas** são mapas que mostram as relações evolutivas entre os organismos. Cladogramas são mostrados nas Figuras 10.1 e 10.6. Cada bifurcação do ramo é definida por uma característica compartilhada por várias espécies daquele ramo. Historicamente, os cladogramas para vertebrados são feitos utilizando evidências de fósseis. Anteriormente, a maioria dos micro-organismos não deixou fósseis; portanto, o sequenciamento de rRNA é utilizado principalmente para montar cladogramas para micro-organismos. A menor subunidade de rRNA utilizada tem 1.500 bases, e os programas de computador fazem os cálculos. As etapas para construir um cladograma são mostradas na **Figura 10.19**.

1. Duas sequências de rRNA são alinhadas e
2. a porcentagem de similaridade entre as sequências é calculada.
3. A seguir, os ramos horizontais são desenhados em um comprimento proporcional à porcentagem de similaridade calculada. Todas as espécies além da ramificação (bifurcação) têm sequências de rRNA similares, sugerindo que são provenientes de um ancestral posicionado nessa ramificação.

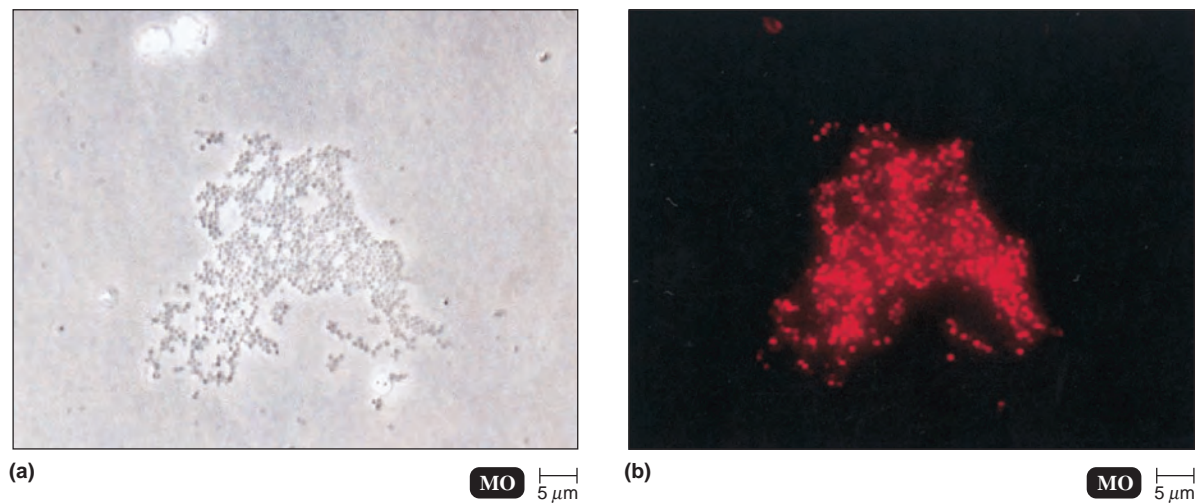



Figura 10.18 **FISH, ou hibridização fluorescente *in situ*.** Uma sonda de DNA ou RNA ligada a um corante fluorescente é utilizada para identificar cromossomos. As bactérias vistas com microscópio de contraste de fase **(a)** são identificadas por uma sonda marcada com fluorescência que hibridiza com uma sequência específica de DNA de *Staphylococcus aureus* **(b)**.

P O que é marcado utilizando a técnica de FISH?

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é apresentado no *Bergey's Manual*? **10-13**
- ✓ Imagine um teste rápido para *Staphylococcus aureus* (*dica*: veja a Figura 6.10, página 169). **10-14**
- ✓ O que é testado no *Western blotting* e no *Southern blotting*? **10-15**
- ✓ O que é identificado por fagotipagem? **10-16**
- ✓ Como a PCR identifica um micro-organismo? **10-17**
- ✓ Quais técnicas envolvem a hibridização de ácidos nucleicos? **10-18**
- ✓ O cladograma é utilizado para identificação ou classificação? **10-12, 10-19**

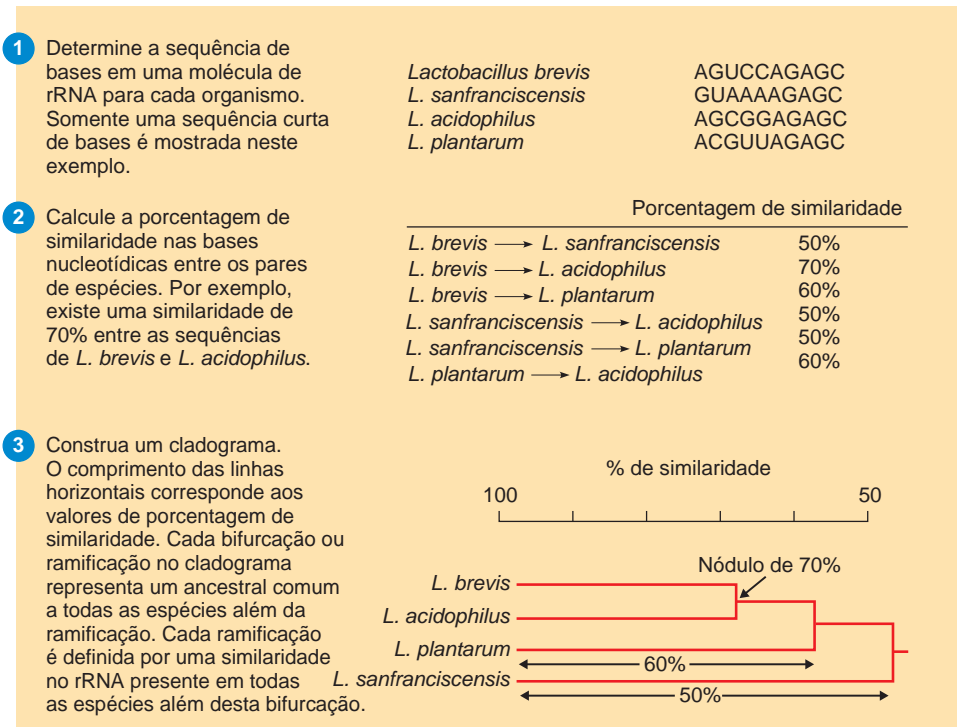



Figura 10.19 **Construindo um cladograma.**

P Por que *L. brevis* e *L. acidophilus* ramificam do mesmo ponto?

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 273)

1. A taxonomia é a ciência de classificação dos organismos. Sua finalidade é mostrar as relações entre os organismos.
2. A taxonomia também fornece um meio de identificar os organismos.

O estudo das relações filogenéticas (p. 274-278)

1. A filogenia é a história evolutiva de um grupo de organismos.
2. A hierarquia taxonômica mostra as relações evolutivas ou filogenéticas entre os organismos.
3. As bactérias foram separadas no Reino *Prokaryotae* em 1968.
4. Os organismos vivos foram divididos em cinco reinos em 1969.

Os três domínios (p. 274-277)

5. Os organismos vivos atualmente são classificados em três domínios. Um domínio pode ser dividido em reinos.
6. Nesse sistema, plantas, animais, fungos e protistas pertencem ao Domínio *Eukarya*.
7. *Bacteria* (com peptideoglicana) forma um segundo domínio.
8. As arquibactérias (com paredes celulares incomuns) são colocadas no Domínio *Archaea*.

A hierarquia filogenética (p. 277, 278)

9. Os organismos são agrupados em taxa de acordo com as suas relações filogenéticas (a partir de um ancestral comum).
10. Algumas das informações para as relações eucarióticas são obtidas de registros de fósseis.
11. As relações procarióticas são determinadas por sequenciamento de rRNA.

Classificação dos organismos (p. 278-282)

Nomenclatura científica (p. 278, 279)

1. De acordo com a nomenclatura científica, a cada organismo são designados dois nomes, ou um binômio: um gênero e um epíteto específico ou espécie.
2. As regras para a designação de nomes para bactérias são estabelecidas pelo *International Committee on Systematics of Prokaryotes*.
3. As regras para denominar fungos e algas estão publicadas no *International Code of Botanical Nomenclature*.
4. As regras para denominar protozoários são encontradas no *International Code of Zoological Nomenclature*.

A hierarquia taxonômica (p. 279)

5. Uma espécie eucariótica é um grupo de organismos que cruzam entre si, mas não cruzam com indivíduos de outra espécie.
6. Espécies similares são agrupadas em um gênero; gêneros similares são agrupados em uma família; famílias, em uma ordem; ordens, em uma classe; classes, em um filo; filos, em um reino; e reinos, em um domínio.

Classificação dos procariotos (p. 279-281)

7. O *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* é a referência-padrão na classificação bacteriana.
8. Um grupo de bactérias derivadas de uma única célula é chamado de linhagem.
9. Linhagens intimamente relacionadas constituem uma espécie bacteriana.

Classificação dos eucariotos (p. 281, 282)

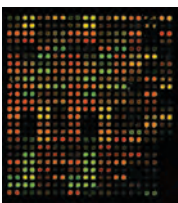
10. Os organismos eucarióticos podem ser classificados no Reino *Fungi, Plantae* ou *Animalia*.
11. Os protistas são essencialmente organismos unicelulares; esses organismos estão sendo atualmente distribuídos nos reinos.
12. *Fungi* são quimio-heterotróficos capazes de absorção que formam esporos.
13. Fotoautotróficos multicelulares são colocados no Reino *Plantae*.
14. Heterotróficos multicelulares com capacidade de ingestão são classificados como *Animalia*.

Classificação dos vírus (p. 282)

15. Os vírus não são colocados em um reino. Eles não são compostos de células e não podem crescer sem uma célula hospedeira.
16. Uma espécie viral é uma população de vírus com características similares que ocupa um nicho ecológico particular.

Métodos para classificação e identificação de micro-organismos (p. 282-294)

1. O *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* é a referencia-padrão na identificação laboratorial de bactérias.
2. As características morfológicas são úteis na identificação de micro-organismos, em especial com a ajuda de técnicas de coloração diferenciais.
3. A presença de várias enzimas, como determinado por testes bioquímicos, é utilizada para identificar micro-organismo.
4. Testes sorológicos, envolvendo as reações de micro-organismos com anticorpos específicos, são úteis para determinar a identidade de linhagens ou espécies, assim como as relações entre os organismos. O ELISA e o *Western blotting* são exemplos de testes sorológicos.
5. A fagotipagem é a identificação de espécies e linhagens bacterianas pela determinação de sua suscetibilidade a diversos fagos.
6. O perfil de ácidos graxos pode ser utilizado para identificar alguns organismos.
7. A citometria de fluxo mede características físicas e químicas das células.
8. A porcentagem de pares de bases GC no ácido nucleico das células pode ser utilizada para a classificação de organismos.
9. O número e o tamanho dos fragmentos de DNA, ou *fingerprinting* de DNA, produzidos por enzimas de restrição são utilizados para determinar similaridades genéticas.
10. A reação em cadeia da polimerase (PCR) pode ser utilizada para amplificar uma pequena quantidade de DNA microbiano em uma amostra. A presença ou a identificação de um organismo é indicada pelo DNA amplificado.

11. Fitas simples de DNA, ou de DNA e RNA, de organismos relacionados formam ligações de hidrogênio e consequentemente moléculas de fita dupla; essa ligação é chamada de hibridização.
12. *Southern blotting*, chip de DNA e FISH são exemplos de técnicas de hibridização de ácidos nucleicos.

13. A sequência de bases em um RNA ribossômico pode ser utilizada para a classificação de organismos.
14. As chaves dicotômicas são utilizadas para identificação de organismos. Os cladogramas mostram as relações filogenéticas entre os organismos.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

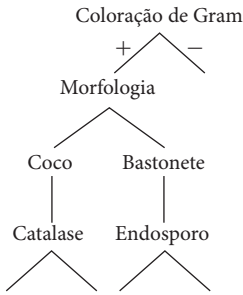
1. Quais dos seguintes organismos estão mais intimamente relacionados? Existem dois da mesma espécie? Em que se baseia sua resposta?

Características	A	B	C	D
Morfologia	Bastonete	Coco	Bastonete	Bastonete
Coloração de Gram	+	–	–	+
Utilização de glicose	Fermentativa	Oxidativa	Fermentativa	Fermentativa
Citocromo-oxidase	Presente	Presente	Ausente	Ausente
% moles de GC	48-52	23-40	50-54	49-53

2. Aqui estão informações adicionais sobre os organismos da questão 1.

Organismos	% de hibridização de DNA
A e B	5-15
A e C	5-15
A e D	70-90
B e C	10-20
B e D	2-5

Quais desses organismos estão mais intimamente relacionados? Compare com sua resposta à questão 1.

3. **DESENHE** Utilize as informações da tabela abaixo para completar a chave dicotômica para esses micro-organismos. Qual é a finalidade de uma chave dicotômica? Procure sobre cada gênero no Capítulo 11 e forneça um exemplo de porque estes organismos são importantes para os seres humanos

	Morfologia	Coloração de Gram	Ácido a partir de glicose	Crescimento aeróbico (O_2 a 21%)	Motilidade por flagelo peritríquio	Presença de citocromo-oxidase	Produção de catalase
Staphylococcus aureus	Cocos	+	+	+	–	–	+
Streptococcus pyogenes	Cocos	+	+	+	–	–	–
Mycoplasma pneumoniae	Cocos	–	+	+ (colônias < 1 mm)	–	–	+
Clostridium botulinum	Bastonetes	+	+	–	+	–	–
Escherichia coli	Bastonetes	–	+	+	+	–	+
Pseudomonas aeruginosa	Bastonetes	–	+	+	–	+	+
Campylobacter fetus	Víbrio	–	–	–	–	+	+
Listeria monocytogenes	Bastonetes	+	+	+	+	–	+

4. **DESENHE** Utilize as informações adicionais mostradas abaixo para construir um cladograma para alguns dos organismos utilizados na questão 3. Qual é a finalidade de um cladograma? De que maneira o seu cladograma difere da chave dicotômica para esses organismos?

	Similaridade em bases do rRNA
P. aeruginosa – M. pneumoniae	52%
P. aeruginosa – C. botulinum	52%
P. aeruginosa – E. coli	79%
M. pneumoniae – C. botulinum	65%
M. pneumoniae – E. coli	52%
E. coli – C. botulinum	52%

% de similaridade

100 50

Múltipla escolha

1. O *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* difere do *Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology* porque o primeiro
   - **a.** Agrupa as bactérias em espécies.
   - **b.** Agrupa as bactérias de acordo com as relações filogenéticas.
   - **c.** Agrupa as bactérias de acordo com as propriedades patogênicas.
   - **d.** Agrupa as bactérias em 19 espécies.
   - **e.** Todas as alternativas.
2. *Bacillus* e *Lactobacillus* não são da mesma ordem. Isso indica que qual das características a seguir *não* é suficiente para alocar um organismo em um táxon?
   - **a.** Características bioquímicas.
   - **b.** Sequenciamento de aminoácidos.
   - **c.** Fagotipagem.
   - **d.** Sorologia.
   - **e.** Características morfológicas.
3. Quais das características a seguir são utilizadas para classificar os organismos no Reino *Fungi*?
   - **a.** Capacidade de fotossíntese; possui parede celular.
   - **b.** Unicelular; possui parede celular; procariótico.
   - **c.** Unicelular; sem parede celular; eucariótico.
   - **d.** Capacidade de absorção; possui parede celular; eucariótico.
   - **e.** Capacidade de ingestão; sem parede celular; multicelular; procariótico.
4. Qual das afirmativas a seguir *não* é verdadeira em relação à nomenclatura científica?
   - **a.** Cada nome é específico.
   - **b.** Os nomes variam de acordo com o local geográfico.
   - **c.** Os nomes são padronizados.
   - **d.** Cada nome consiste do gênero e de um epíteto específico.
   - **e.** Foi criado por Linnaeus.
5. Você poderia identificar uma bactéria desconhecida por todos os métodos a seguir, *exceto*
   - **a.** Hibridizando uma sonda de DNA de uma bactéria conhecida com o DNA de uma bactéria desconhecida.
   - **b.** Realizando um perfil de ácidos graxos do organismo desconhecido.
   - **c.** Aglutinando com antissoro específico o organismo desconhecido.
   - **d.** Sequenciando o RNA ribossômico.
   - **e.** Determinando a porcentagem de guanina + citosina.
6. Os micoplasmas sem parede são considerados relacionados a bactérias gram-positivas. Qual das afirmativas seguintes fornece a evidência mais forte para isso?
   - **a.** Eles compartilham sequências comuns de rRNA.
   - **b.** Algumas bactérias gram-positivas e alguns micoplasmas produzem catalase.
   - **c.** Ambos os grupos são procariotos.
   - **d.** Algumas bactérias gram-positivas e alguns micoplasmas têm células com forma de cocos.
   - **e.** Ambos os grupos contêm patógenos humanos.

Utilize as seguintes escolhas para responder as questões 7 e 8.

- **a.** *Animalia*.
- **b.** *Fungi*.
- **c.** *Plantae*.
- **d.** *Firmicutes* (bactérias gram-positivas).
- **e.** *Proteobacteria* (bactérias gram-negativas).

7. Em qual grupo você colocaria um organismo multicelular que tem uma boca e vive no fígado humano?
8. Em qual grupo você colocaria um organismo fotossintético que não tem núcleo e possui uma parede fina de peptideoglicana, envolta em uma membrana externa?

Utilize as seguintes alternativas para responder as questões 9 e 10.

- **1.** Flagelos 9 +2.
- **2.** Ribossomo 70S.
- **3.** Fímbria.
- **4.** Núcleo.
- **5.** Peptideoglicana.
- **6.** Membrana plasmática.

9. Qual(is) desses é(são) encontrado(s) nos três domínios?
   - **a.** 2, 6.
   - **b.** 5.
   - **c.** 2, 4, 6.
   - **d.** 1, 3, 5.
   - **e.** Todos os seis.
10. Qual(is) desses é(são) encontrado(s) *somente* em procariotos?
    - **a.** 1, 4, 6.
    - **b.** 3, 5.
    - **c.** 1, 2.
    - **d.** 4.
    - **e.** 2, 4, 5.

Pensamento crítico

1. O conteúdo de GC para *Micrococcus* é de 66 a 75 moles %, e para *Staphylococcus*, de 30 a 40 moles %. De acordo com essa informação, você poderia concluir que esses dois gêneros estão intimamente relacionados?
2. Descreva o uso de uma sonda de DNA e PCR para:
   - **a.** Identificação rápida de uma bactéria desconhecida.
   - **b.** Determinação de quais grupos de bactérias são mais intimamente relacionados.
3. O meio SF é um meio seletivo, desenvolvido em 1940, para testar a contaminação fecal de leite ou água. Somente certos cocos gram-positivos podem crescer neste meio. Por que é chamado de SF? Utilizando este meio, qual gênero você pode cultivar?

Aplicações clínicas

1. Um veterinário de 55 anos foi admitido em um hospital com uma história de febre de dois dias, dor no peito e tosse. Cocos gram-positivos

foram detectados no seu escarro, e ele foi tratado para pneumonia lobar com penicilina. No dia seguinte, outra coloração de Gram de seu escarro revelou bastonetes gram-negativos, e o tratamento foi mudado para ampicilina e gentamicina. Uma cultura do escarro mostrou bastonetes gram-negativos bioquimicamente inativos identificados como *Pantoea* (*Enterobacter*) *agglomerans*. Após coloração com anticorpos fluorescentes e fagotipagem, *Yersinia pestis* foi identificado nos escarros e no sangue do paciente, que faleceu três dias após a admissão no hospital. Foi administrada tetraciclina a outras 20 pessoas que tiveram contato com ele (funcionários do hospital, família e colegas de trabalho). Qual doença o paciente teve? Discuta o que aconteceu de errado no diagnóstico e como sua morte poderia ter sido evitada. Por que as outras 220 pessoas foram tratadas? (*Dica:* referir ao Capítulo 23.)

2. Uma menina de 6 anos foi admitida em um hospital com endocardite. Hemoculturas mostraram um bastonete gram-positivo aeróbico, identificado no laboratório do hospital como *Corynebacterium xerosis*. A menina faleceu após seis semanas de tratamento com penicilina e cloranfenicol intravenosos. A bactéria foi testada por outro laboratório e identificada como *C. diphtheriae*. Os seguintes resultados dos testes foram obtidos por cada laboratório:

	Laboratório do hospital	Outro laboratório
Catalase	+	+
Redução de nitrato	+	+
Ureia	–	–
Hidrólise da esculina	–	–
Fermentação de glicose	+	+
Fermentação de sacarose	–	+
Teste sorológico para produção de toxina	Não realizado	+

Forneça uma possível explicação para a identificação incorreta. Quais são as consequências potenciais para a saúde pública de um erro de identificação de *C. diphtheriae*? (*Dica*: referir ao Capítulo 24.)

3. Utilizando as seguintes informações, construa uma chave dicotômica para distinguir esses organismos unicelulares. Quais deles causam doença?

	Mitocôndria?	Clorofila?	Tipo nutricional?	Motilidade?
Euglena	+	+	Ambos	+
Giardia	–	–	Heterotrófico	+
Nosema	–	–	Heterotrófico	-
Pfiesteria	+	+	Autotrófico	+
Trichomonas	–	–	Heterotrófico	+
Trypanosoma	+	–	Heterotrófico	+

Utilizando as informações adicionais mostradas abaixo, crie uma chave dicotômica para esses organismos. As duas chaves diferem? Explique por quê. Qual chave é mais útil para a identificação em laboratório? E para a classificação?

	Bases rRNA																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Euglena	C	C	A	G	G	U	U	G	U	U	C	C	A	G	U	U	U	U	A	A
Giardia	C	C	A	U	A	U	U	U	U	U	G	A	C	G	A	A	G	G	U	C
Nosema	C	C	A	U	A	U	U	U	U	U	A	A	C	G	A	A	G	G	C	C
Pfiesteria	C	C	A	A	C	U	U	A	U	U	C	C	A	G	U	U	U	C	A	G
Trichomonas	C	C	A	U	A	U	U	U	U	U	G	A	C	G	A	A	G	G	G	C
Trypanosoma	C	C	A	C	G	U	U	G	U	U	C	C	A	G	U	U	U	A	A	A

11 Procariotos: Domínios *Bacteria* e *Archaea*

Quando os biólogos encontraram bactérias microscópicas pela primeira vez, eles ficaram confusos em como classificá-las. As bactérias claramente não eram animais, nem plantas com raiz. As tentativas de se criar um sistema taxonômico para as bactérias com base no sistema filogenético desenvolvido para plantas e animais falharam (veja a página 274). Nas primeiras edições do *Bergey's Manual*, as bactérias eram agrupadas de acordo com a morfologia (bastonete, cocos), as reações de coloração, a presença de endosporos e outras características óbvias. Embora esse sistema tenha usos práticos, os microbiologistas tinham consciência de que havia muitas limitações, como se morcegos e pássaros fossem agrupados juntos pelo fato de terem asas. O conhecimento das bactérias em nível molecular se expandiu a tal ponto que agora é possível basear a última edição do *Bergey's Manual* em um sistema filogenético. Por exemplo, os gêneros *Rickettsia* e *Chlamydia* não são mais agrupados por suas necessidades comuns de crescimento intracelular. Enquanto os membros do gênero *Chlamydia* são agora encontrados em um filo chamado de *Chlamydia*, as riquétsias são agrupadas em um filo distante, *Proteobacteria,* na classe estranhamente chamada de *Alpha-proteobacteria*. Alguns microbiologistas acham essa mudança perturbadora, mas ela reflete diferenças importantes. Essas diferenças são principalmente no RNA ribossômico (rRNA) dos micro-organismos, que varia lentamente (veja a página 292) e realiza as mesmas funções em todos os organismos.

SOB O MICROSCÓPIO

Thiomargarita namibiensis. Esta é uma bactéria gigante rara

P&R

As bactérias são organismos de células únicas que devem absorver seus nutrientes por difusão simples. As dimensões da *T. namibiensis* são centenas de vezes maiores do que as da maioria das bactérias, sendo grande demais para que a difusão simples funcione. Como a bactéria pode resolver este problema?

Procure pela resposta neste capítulo.

Grupos procarióticos

Na segunda edição do *Bergey's Manual*, os procariotos são agrupados em dois **domínios**, **Archaea** e **Bacteria**. Os dois domínios são constituídos por células procarióticas. Escritos em letras minúsculas, ou seja, arquibactérias e bactérias, estes termos denotam organismos que pertencem aos dois domínios. Cada domínio é dividido em filos, cada filo é dividido em classes, e assim por diante. Os filos discutidos neste capítulo estão resumidos na **Tabela 11.1** (veja também o Apêndice F).

Tabela 11.1 Procariotos selecionados do *Bergey´s Manual of Systematic Bacteriology*, segunda edição*

Filo Classe	Ordem	Gêneros importantes	Características especiais
DOMÍNIO *BACTERIA*			
Proteobactérias			
Alfa-proteobactérias	*Caulobacterales*	*Caulobacter*	Pedunculados
	Rickettsiales	*Ehrlichia*	Patógenos intracelulares humanos obrigatórios
		Rickettsia	Patógenos intracelulares humanos obrigatórios
		Wolbachia	Simbiontes de insetos
	Rhizobiales	*Agrobacterium*	Patógenos de plantas
		Bartonella	Patógenos humanos
		Beijerinckia	Fixadores de nitrogênio de vida livre
		Bradyrhizobium	Fixadores de nitrogênio simbióticos
		Brucella	Patógenos humanos
		Hyphomicrobium	Brotamento
		Nitrobacter	Nitrificação
		Rhizobium	Fixadores de nitrogênio simbióticos
	Rhodospirillales	*Acetobacter*	Produtores de ácido acético
		Azospirillum	Fixadores de nitrogênio
		Gluconobacter	Produtores de ácido acético
		Rhodospirillum	Fotossintéticos, anoxigênicos
Beta-proteobactérias	*Burkholderiales*	*Burkholderia*	Patógenos oportunistas
		Bordetella	Patógenos humanos
		Sphaerotilus	Protegidos por bainha
	Hydrogenophilales	*Thiobacillus*	Oxidam enxofre
	Neisseriales	*Neisseria*	Patógenos humanos
	Nitrosomonadales	*Nitrosomonas*	Nitrificação
		Spirillum	Encontrados em água fresca parada
	Rhodocyclales	*Zoogloea*	Tratamento de esgoto
Gama-proteobactérias	*Chromatiales*	*Chromatium*	Fotossintéticos, anoxigênicos
	Thiotrichales	*Beggiatoa*	Oxidam enxofre
		Thiomargarita	Bactérias gigantes
		Francisella	Patógenos humanos
	Legionellales	*Legionella*	Patógenos humanos
		Coxiella	Patógenos intracelulares humanos obrigatórios
	Pseudomonadales	*Azomonas*	Fixadores de nitrogênio de vida livre
		Azotobacter	Fixadores de nitrogênio de vida livre
		Moraxella	Patógenos humanos
		Pseudomonas	Patógenos oportunistas
	Vibrionales	*Vibrio*	Patógenos humanos
	Enterobacteriales	*Citrobacter*	Patógenos oportunistas
		Enterobacter	Patógenos oportunistas

*Veja o Apêndice F para uma lista taxonômica completa. Essa tabela inclui os procariotos mencionados no texto. Descrições como *patogênico* significam que essa característica é comum no gênero, mas não que todos os membros do gênero a possuem.

Tabela 11.1 **(*Continuação*)**

Filo Classe	Ordem	Gêneros importantes	Características especiais
		Erwinia	Patógenos de plantas
		Escherichia	Bactérias intestinais normais, algumas patogênicas
		Klebsiella	Patógenos oportunistas
		Proteus	Bactérias intestinais normais, patogênicas ocasionais
		Salmonella	Patógenos humanos
		Serratia	Pigmento vermelho, patógenos oportunistas
		Shigella	Patógenos humanos
		Yersinia	Patógenos humanos
	Pasteurellales	*Haemophilus*	Patógenos humanos
		Pasteurella	Patógenos humanos
Delta-proteobactérias	*Bdellovibrionales*	*Bdellovibrio*	Parasitas de bactérias
	Desulfovibrionales	*Desulfovibrio*	Redutores de sulfato
	Myxococcales	*Myxococcus*	Deslizantes, frutificantes
		Stigmatella	Deslizantes, frutificantes
Epsílon-proteobactérias	*Campylobacterales*	*Campylobacter*	Patógenos humanos
		Helicobacter	Patógenos humanos, carcinogênicos
Bactérias gram-negativas, não proteobactérias			
Cianobactérias			
		Anabaena	Fotossintéticos, oxigênicos
		Gloeocapsa	Fotossintéticos, oxigênicos
Chlorobi			
		Chlorobium	Fotossintéticos, anoxigênicos
Chloroflexi			
		Chloroflexus	Fotossintéticos, anoxigênicos
***Firmicutes* (bactérias gram-positivas de baixo índice G + C)**			
	Clostridiales	*Clostridium*	Anaeróbicos, endosporos, alguns patógenos humanos
		Epulopiscium	Bactérias gigantes
		Sarcina	Ocorrem em grupos cubiformes
	Mycoplasmatales[†]	*Mycoplasma*	Sem parede celular, patógenos humanos
		Spiroplasma	Sem parede celular, pleomórficos
		Ureaplasma	Sem parede celular, amônia a partir de ureia
	Bacillales	*Bacillus*	Endosporos, alguns patógenos
		Listeria	Patógenos humanos
		Staphylococcus	Alguns patógenos humanos
	Lactobacillales	*Enterococcus*	Patógenos oportunistas
		Lactobacillus	Produtores de ácido lático
		Streptococcus	Muitos patógenos humanos
***Actinobacteria* (bactérias gram-positivas de alto índice G + C)**			
	Actinomycetales	*Actinomyces*	Filamentosos, ramificados, alguns patógenos humanos
		Corynebacterium	Patógenos humanos
		Frankia	Fixadores de nitrogênio de vida livre
		Gardnerella	Patógenos humanos
		Mycobacterium	Ácido-álcool resistentes, patógenos humanos
		Nocardia	Filamentosos, ramificados, patógenos oportunistas

[†]As bactérias na ordem *Mycoplasmatales* são geneticamente relacionadas com as bactérias gram-positivas de baixo índice G + C, mas não têm parede celular e apresentam uma coloração de Gram negativa.

Tabela 11.1 ***(Continuação)***

Filo / Classe	**Ordem**	**Gêneros importantes**	**Características especiais**
		Propionibacterium	Produtores de ácido propiônico
		Streptomyces	Filamentosos, ramificados, muitos produzem antibióticos
Planctomycetes			
	Planctomycetales	*Planctomyces*	Sem peptideoglicana na parede, pedunculados
		Gemmata	Sem peptideoglicana na parede, estrutura interna semelhante a um núcleo eucariótico
Chlamydiae			
	Chlamydiales	*Chlamydia*	Parasitas intracelulares, patógenos humanos
		Chlamydophila	Parasitas intracelulares, patógenos humanos
Spirochaetes			
	Spirochaetales	*Borrelia*	Patógenos humanos
		Leptospira	Patógenos humanos
		Treponema	Patógenos humanos
Bacteroidetes			
	Bacteroidales	*Bacteroides*	Trato intestinal humano
		Prevotella	Cavidade oral humana
Fusobacteria			
	Fusobacteriales	*Fusobacterium*	Trato intestinal humano
		Streptobacillus	Patógeno humano
DOMÍNIO *ARCHAEA*			
***Crenarchaeota* (Gram-negativas)**			
	Desulforococcales	*Pyrodictium*	Hipertermófilos
	Sulfolobales	*Sulfolobus*	Hipertermófilos
***Euryarchaeota* (Gram-positivas ou variáveis)**			
	Methanobacteriales	*Methanobacterium*	Metanógenos
	Halobacteriales	*Halobacterium*	Necessitam de alta concentração de sal
		Halococcus	Necessitam de alta concentração de sal

DOMÍNIO *BACTERIA*

A maioria de nós considera as bactérias como criaturas pequenas e invisíveis, potencialmente perigosas. Na realidade, poucas espécies de bactérias causam doenças em humanos, animais, plantas ou qualquer outro organismo. Depois de ter completado o curso de microbiologia, você vai perceber que, sem as bactérias, a maior parte da vida como a conhecemos não seria possível. Neste capítulo, você vai aprender como os grupos bacterianos se diferenciam uns dos outros e o quanto são importantes para o mundo da microbiologia. Nossa discussão vai enfatizar as bactérias consideradas de importância prática, aquelas importantes para a medicina, ou aquelas que ilustram princípios biologicamente incomuns ou interessantes.

Em Objetivos do Aprendizado e Teste seu Conhecimento, ao longo deste capítulo, você irá se familiarizar com esses organismos e procurar por similaridades e diferenças entre eles. Você irá desenhar uma chave dicotômica para diferenciar as bactérias descritas em cada grupo. Vamos desenhar a primeira para você.

Proteobactérias

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

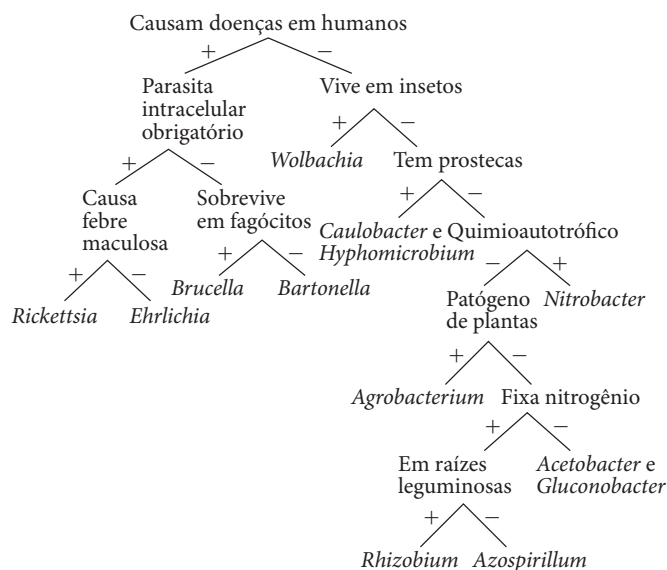
11-1 Diferenciar as alfa-proteobactérias descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica (veja uma amostra na página da frente).

11-2 Diferenciar as beta-proteobactérias descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

11-3 Diferenciar as gama-proteobactérias descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

11-4 Diferenciar as delta-proteobactérias descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

11-5 Diferenciar as epsilon-proteobactérias descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

Desenhamos a primeira dessas chaves dicotômicas (para alfa-proteobactérias) para você como um exemplo.

As **proteobactérias**, que incluem a maioria das bactérias gram-negativas quimio-heterotróficas, presumidamente surgiram de um ancestral comum fotossintético. Elas são agora o maior grupo taxonômico bacteriano. Contudo, poucas ainda são fotossintéticas; outras capacidades metabólicas e nutricionais surgiram para substituir essa característica. A relação filogenética nesses grupos é baseada em estudos de rRNA. O nome *Proteobacteria* vem do deus mitológico grego Proteus, que podia assumir diversas formas. As proteobactérias são separadas em cinco classes designadas por letras gregas: alfa-proteobactérias, beta-proteobactérias, gama-proteobactérias, delta-proteobactérias e epsilon-proteobactérias.

As alfa-proteobactérias

Como grupo, as alfa-proteobactérias incluem a maioria das proteobactérias que são capazes de crescimento com níveis muito baixos de nutrientes. Algumas têm uma morfologia incomum, incluindo protuberâncias como pedúnculos ou brotos conhecidos como **prostecas**. As alfa-proteobactérias incluem também bactérias importantes na agricultura capazes de induzir a fixação de nitrogênio em simbiose com plantas e vários patógenos de plantas e humanos.

Pelagibacter. Um dos mais abundantes micro-organismos na Terra, em particular em oceanos, o *Pelagibacter ubique* é um dos micro-organismos marinhos descobertos com a utilização da técnica do FISH (veja a página 292), sendo nomeado SAR 11 porque sua descoberta original foi no Mar dos Sargaços. O *P. ubique* foi o primeiro membro desse grupo a ser cultivado com sucesso. Seu genoma foi sequenciado, demonstrando que possui somente 1.354 genes. Isto é pouco para um organismo de vida livre, embora vários micoplasmas tenham até menos genes. As bactérias com relação simbiótica têm menos necessidades metabólicas e os menores genomas (veja a página 326). A bactéria é muito pequena, com um pouco mais de 0,3 μm de diâmetro. Esse pequeno tamanho e o genoma mínimo provavelmente forneçam uma vantagem competitiva para a sobrevivência em um ambiente de poucos nutrientes. De fato, parece ser o organismo mais abundante (parte do seu nome, *ubique*, é derivada de ubíquo), com base no peso, nos oceanos onde seu elevado número deve ser responsável por seu papel importante no ciclo terrestre do carbono.

Azospirillum. Os microbiologistas agrícolas têm se interessado por membros do gênero *Azospirillum*, uma bactéria do solo que cresce em estreita associação com as raízes de muitas plantas, especialmente gramíneas tropicais. Ela utiliza os nutrientes excretados pelas plantas e, em retorno, fixa o nitrogênio da atmosfera. Essa forma de fixação do nitrogênio é mais significativa em certas gramíneas tropicais e na cana-de-açúcar, embora o organismo possa ser isolado do sistema de raízes de muitas plantas de clima temperado, como o milho. O prefixo *azo-* frequentemente é encontrado em gêneros de bactérias fixadoras de nitrogênio. Ele é derivado de *a* (sem) e *zo* (vida), em referência aos primórdios da química, quando o oxigênio era removido de uma atmosfera em que o experimento estava ocorrendo, com o uso de uma vela acesa. Presumivelmente, grande parte do nitrogênio permanecia no ambiente, e descobriu-se que a vida dos mamíferos não era possível nessa atmosfera. Dessa forma, o nitrogênio passou a ser associado à ausência de vida.

***Acetobacter* e *gluconobacter*.** *Acetobacter* e *Gluconobacter* são organismos aeróbicos importantes para a indústria que convertem o etanol em ácido acético (vinagre).

Rickettsia. Na primeira edição do *Bergey´s Manual*, os gêneros *Rickettsia, Coxiella* e *Chlamydia* foram agrupados próximos, pois compartilhavam a característica comum de serem parasitas intracelulares obrigatórios - ou seja, se reproduzem somente dentro de uma célula de mamífero. Na segunda edição, eles estão totalmente separados. Uma comparação entre riquétsias, clamídias e vírus aparece na Tabela 13.1, página 368.

As riquétsias são bactérias gram-negativas em forma de bastonetes ou cocobacilos (**Figura 11.1a**). Uma característica distintiva da maioria das riquétsias é que elas são transmitidas aos humanos por picadas de insetos e carrapatos, como acontece com as *Coxiella* (discutidas mais tarde com as gama-proteobactérias). As riquétsias entram na célula do hospedeiro por indução da fagocitose. Elas entram rapidamente no citoplasma celular e começam a se reproduzir por fissão binária (**Figura 11.1b**). Em geral, elas podem ser cultivadas artificialmente em cultura de células ou embrião de galinha (Capítulo 13, páginas 377 a 379).

As riquétsias são responsáveis por diversas doenças conhecidas como grupo da febre maculosa. Essas doenças incluem o tifo epidêmico, causado por *Rickettsia prowazekii* e transmitido por piolho; o tifo endêmico murino, causado por *R. typhi* e transmitido por pulgas de ratos; e a febre maculosa das Montanhas Rochosas, causada por *R. rickettsi* e transmitida por carrapatos. Nos homens, as infecções por riquétsias danificam os capilares sanguíneos, o que resulta em uma erupção cutânea manchada característica.

Ehrlichia. As *Ehrlichiae* são bactérias gram-negativas parecidas com riquétsias e que vivem obrigatoriamente dentro das células brancas do sangue. As espécies de *Ehrlichia* são transmitidas por carrapatos aos seres humanos e causam a erliquiose, uma doença algumas vezes fatal.

(a) Uma célula de riquétsia que acabou de ser liberada da célula do hospedeiro.

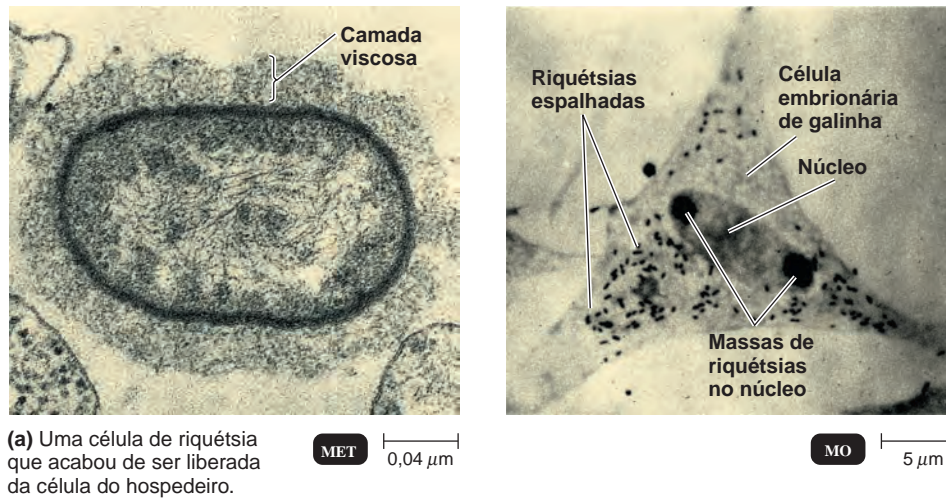



Figura 11.1 **Riquétsias.**

P **Como as riquétsias são transmitidas de um hospedeiro para outro?**

(b) Riquétsias crescem somente dentro da célula hospedeira, como a célula embrionária de galinha mostrada aqui. Observe as riquétsias espalhadas dentro da célula e a massa compacta de riquétsias no núcleo celular.

Caulobacter e hyphomicrobium. Os membros do gênero *Caulobacter* são encontrados em ambientes aquáticos, como lagos, com baixa concentração de nutrientes. Eles se caracterizam por pedúnculos que prendem os organismos a superfícies (**Figura 11.2**). Esses arranjos aumentam sua absorção de nutrientes, pois estão expostos à mudança contínua do fluxo das águas e o pedúnculo aumenta a relação superfície/volume da célula. Além disso, se a superfície à qual elas se prendem for um hospedeiro vivo, essas bactérias podem utilizar as excreções do hospedeiro como nutrientes. Quando a concentração de um nutriente é excepcionalmente baixa, o tamanho do pedúnculo aumenta, evidentemente para fornecer uma área de superfície ainda maior para absorção de nutrientes.

As bactérias que brotam não se dividem por fissão binária em duas células quase idênticas. O processo de brotamento assemelha-se à reprodução assexuada de muitas leveduras (Figura 12.3, página 332). A célula parental mantém sua identidade, enquanto o broto aumenta em tamanho até se separar como uma nova célula completa. Um exemplo é o gênero *Hyphomicrobium*, como mostrado na **Figura 11.3**. Essas bactérias, como as caulobactérias, são encontradas em ambientes aquáticos com baixa concentração de nutrientes e já foram encontradas crescendo em tanques de laboratório. Tanto *Caulobacter* quanto *Hyphomicrobium* produzem prostecas proeminentes.

Rhizobium, bradyrhizobium* e *agrobacterium. *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* são dois dos mais importantes gêneros de um grupo de bactérias essenciais para a agricultura que infectam especificamente as raízes de plantas leguminosas, como feijões, ervilhas ou trevos. Para simplificar, essas bactérias são conhecidas pelo nome comum de **rhizobias.** A presença de rhizobias nas raízes leva à formação de nódulos, nos quais a rhizobia e a planta formam uma relação simbiótica, resultando na fixação de nitrogênio a partir do ar para utilização pela planta.

Como as rhizobias, o gênero *Agrobacterium* tem a capacidade de invadir as plantas. Contudo, ele não induz nódulos nas raízes ou fixação de nitrogênio. De especial interesse é o *Agrobacterium tumefaciens*. Esse patógeno de plantas causa uma doença chamada de galha da coroa; a coroa é a área da planta onde as raízes e o caule se unem. O tumor do tipo galha é induzido quando *A. tumefaciens* insere um plasmídeo contendo informações genéticas bacterianas no DNA cromossômico da planta (veja a Figura 9.19, página 265). Por essa razão, os geneticistas microbianos estão muito interessa-

(a)

(b)

MET 0,4 μm

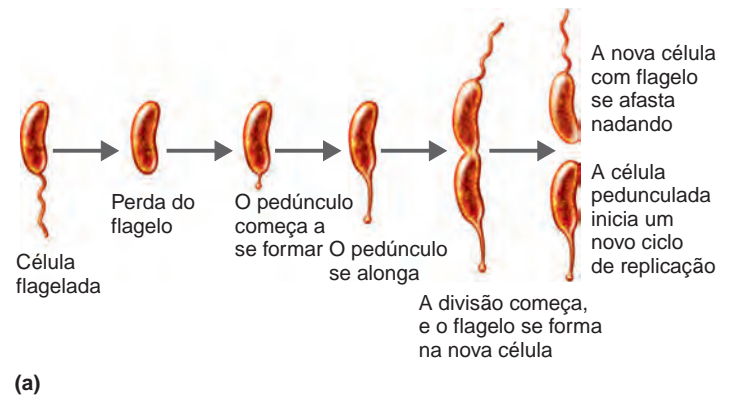



Figura 11.2 ***Caulobacter.***

P **Qual é a vantagem competitiva fornecida pela fixação em uma superfície?**

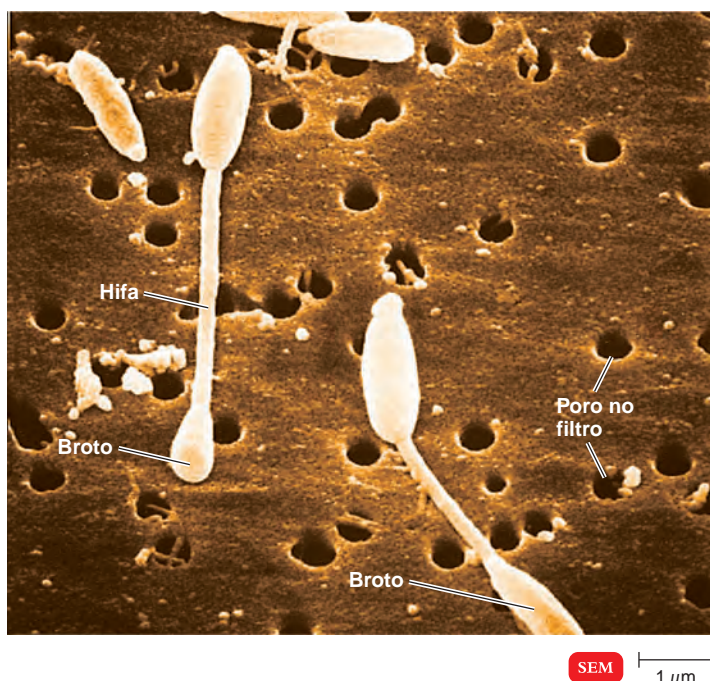



Figura 11.3 ***Hyphomicrobium*****, um tipo de bactéria que realiza brotamento.**

P **A maioria das bactérias não se reproduz por brotamento. Qual método elas utilizam?**

dos nesse organismo. Os plasmídeos são os vetores mais comuns que os cientistas utilizam para introduzir novos genes em uma célula, e a espessa parede celular das plantas é particularmente difícil de ser penetrada (veja a Figura 9.20, página 265).

Bartonella. O gênero *Bartonella* contém vários membros que são patogênicos para humanos. O mais conhecido é o *Bartonella henselae*, um bacilo gram-negativo que causa a doença da arranhadura de gato.

Brucella. As bactérias *Brucella* são pequenos cocobacilos imóveis. Todas as espécies de *Brucella* são parasitas obrigatórios de mamíferos e causam a doença brucelose. A capacidade de sobreviver à fagocitose é de interesse médico, pois esse é um importante elemento de defesa do corpo contra as bactérias (veja o Capítulo 16, página 457).

Nitrobacter e nitrosomonas. *Nitrobacter* e *Nitrosomonas* são gêneros de bactérias nitrificantes de grande importância para o meio ambiente e a agricultura. Eles são quimioautotróficos capazes de utilizar substâncias químicas inorgânicas como fonte de energia e dióxido de carbono como fonte única de carbono, a partir dos quais eles sintetizam toda a sua complexa maquinaria química. As fontes de energia dos gêneros *Nitrobacter* e *Nitrosomonas* (o último é um membro das beta-proteobactérias) são compostos nitrogenados reduzidos. As espécies de *Nitrobacter* oxidam amônio (NH_4^+) em nitrito (NO_2^-), que por sua vez é oxidado pelas espécies de *Nitrosomonas* em nitrato (NO_3^-) no processo de *nitrificação*. Os nitratos são importantes para a agricultura; são uma forma de nitrogênio altamente móvel no solo e, portanto, facilmente encontrada e utilizável pelas plantas.

Wolbachia. *Wolbachia* é provavelmente o gênero bacteriano infeccioso mais comum no mundo. Mesmo assim, pouco é conhecido sobre as *Wolbachia*; elas vivem somente dentro das células do seu hospedeiro, geralmente insetos (uma relação conhecida como endossimbiose). Portanto, as *Wolbachia* escapam da detecção por métodos de cultura normais. Esse fascinante grupo de bactérias é descrito no quadro da página 307.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as alfa-proteobactérias descritas neste capítulo. (*Dica*: veja a página 303 para um exemplo completo.) **11-1**

As beta-proteobactérias

Existe uma confusão considerável entre as beta-proteobactérias e as alfa-proteobactérias, como entre as bactérias nitrificantes discutidas anteriormente. As beta-proteobactérias com frequência utilizam substâncias nutrientes que se difundem a partir de áreas de decomposição anaeróbica de matéria orgânica, como gás hidrogênio, amônia e metano. Várias bactérias patogênicas *importantes* são encontradas nesse grupo.

Thiobacillus. As espécies de *Thiobacillus* e outras bactérias que oxidam o enxofre são importantes no ciclo do enxofre (veja a Figura 27.7, página 774). Essas bactérias quimioautotróficas são capazes de obter energia pela oxidação de formas reduzidas de enxofre, como o sulfeto de hidrogênio (H_2S) ou o enxofre elementar (S^0), em sulfatos (SO_4^{2-}).

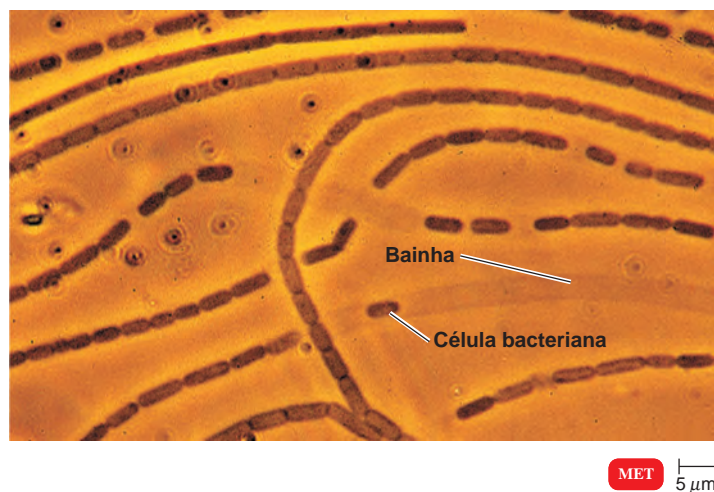
Spirillum. O habitat do gênero *Spirillum* é essencialmente a água fresca. Uma diferença morfológica importante em relação às espiroquetas helicoidais (discutidas na página 322) é que as bactérias *Spirillum* são movidas por um flagelo polar convencional, em vez de filamentos axiais. Os espirilos são bactérias gram-negativas aeróbicas e relativamente grandes. *Spirillum volutans* frequentemente é utilizado em lâminas de demonstração quando estudantes de microbiologia operam pela primeira vez um microscópio (**Figura 11.4**).

Sphaerotilus. Bactérias que possuem bainha, as quais incluem *Sphaerotilus natans,* são encontradas em água fresca e no esgoto. Essas bactérias gram-negativas com flagelo polar formam uma bainha filamentosa oca onde vivem (**Figura 11.5**). As bainhas protegem e também ajudam a acumular nutrientes. *Sphaerotilus* contribuem na formação da massa do esgoto, um problema importante no tratamento de esgoto (veja o Capítulo 27).

Burkholderia. O gênero *Burkholderia* foi inicialmente agrupado com o gênero *Pseudomonas*, que agora é classificado como gama-proteobactéria. Como as *Pseudomonas*, quase todas as espécies de *Burkholderia* são movidas por um único flagelo polar ou um tufo de flagelos. A espécie mais conhecida é *Burkholderia cepacia*. Essas bactérias têm um espectro nutricional extraordinário e são capazes de degradar mais de 10 moléculas orgânicas diferentes. Essa capacidade frequentemente é um fator na con-

Figura 11.4 ***Spirillum volutans.*** Essas grandes bactérias helicoidais são encontradas em ambientes aquáticos. Observe os flagelos polares.

P Essa bactéria se locomove? Como você sabe?

taminação de equipamentos e drogas em hospitais; na verdade, essa bactéria pode crescer em soluções de desinfetantes (veja o quadro no Capítulo 15, página 440). Ela também é um problema para pessoas com fibrose cística, uma doença genética pulmonar, pois ela metaboliza as secreções respiratórias acumuladas. *Burkholderia pseudomallei* vive nos solos úmidos e é a causa de uma doença grave (melioidose) endêmica no Sudeste da Ásia e no Norte da Austrália.

Bordetella. *Bordetella pertussis* é um bastonete imóvel, aeróbico, gram-negativo de especial importância. Esse patógeno perigoso é a causa da coqueluche ou tosse comprida.

Neisseria. As bactérias do gênero *Neisseria* são cocos gram-negativos aeróbicos que em geral habitam as membranas mucosas dos mamíferos. Espécies patogênicas incluem o gonococo *Neisseria gonorrhoeae*, o agente que causa a gonorreia (**Figura 11.6** e o quadro no Capítulo 26, página 751), e *N. meningitidis*, o agente da meningite meningocócica.

Zoogloea. O gênero *Zoogloea* é importante no contexto dos processos aeróbicos de tratamento de esgoto, como o sistema de lodo ativado (veja a Figura 27.22, página 787). À medida que crescem, as bactérias *Zoogloea* formam uma massa limosa e fofa, essencial para o funcionamento adequado desse sistema.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica das beta-proteobactérias descritas neste capítulo. **11-2**

As gama-proteobactérias

As gama-proteobactérias constituem o maior subgrupo das proteobactérias e incluem uma grande variedade de tipos fisiológicos. Uma espécie que é utilizada em microbiologia industrial é descrita no quadro do Capítulo 28, página 801.

Beggiatoa. *Beggiatoa alba*, a única espécie desse gênero incomum, cresce em sedimentos aquáticos na interface entre as camadas aeróbicas e anaeróbicas. Morfologicamente, ela parece com certas cianobactérias filamentosas (página 313), mas não é fotos-

Figura 11.5 ***Sphaerotilus natans.*** Essas bactérias embainhadas são encontradas em esgoto diluído e ambientes aquáticos. Elas formam bainhas alongadas nas quais as bactérias vivem. As bactérias têm flagelo (não visível aqui) e podem se locomover livremente fora da bainha.

P Como a bainha pode ajudar a célula?

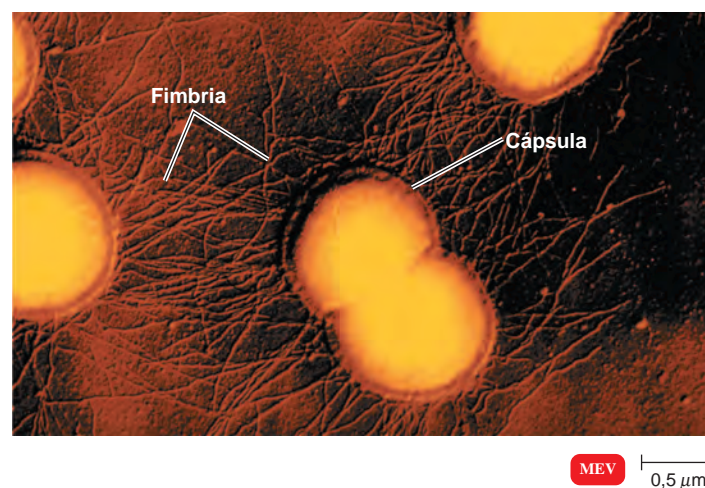



Figura 11.6 **O coco gram-negativo *Neisseria gonorrhoeae.*** Observe o arranjo em par (diplococos). As fímbrias permitem ao organismo se fixar nas membranas mucosas, contribuindo para sua patogenicidade. *N. gonorrhoeae* causa a gonorreia.

P Para que as fímbrias são utilizadas?

As bactérias e o sexo dos insetos

***Wolbachia* é provavelmente o gênero bacteriano infeccioso mais comum** na Terra. Embora tenham sido descobertos em 1924, pouco era conhecido sobre esses organismos até 1990. Eles conseguem escapar da detecção pelos métodos comuns de cultura, porque vivem como endossimbiontes nas células de insetos e outros invertebrados (Figura A).

As *Wolbachia* infectam mais de um milhão de espécies de insetos e outros invertebrados. No total, pelo menos 75% dos animais testados carregam essa bactéria. A *Wolbachia* é essencial para os nematódeos. Se a bactéria for morta com antibióticos, o verme hospedeiro morre. Pulgões-da-ervilha infectados com *Wolbachia* não são mortos pela larva da vespa, normalmente letal; a bactéria é inofensiva para o pulgão, mas mata a vespa.

Em alguns insetos, *Wolbachia* destrói os machos dessas espécies. Ela pode transformar machos em fêmeas interferindo com o hormônio masculino. Como mostrado na Figura B, se insetos machos e fêmeas não estiverem infectados com *Wolbachia*, eles produzem prole normalmente. Se somente o macho estiver infectado, os insetos não conseguem se reproduzir. Se um ou ambos os insetos em um par estiverem infetados, somente as fêmeas infectadas irão se reproduzir - e transmitem a *Wolbachia* no citoplasma dos ovos. A prole produzida sem fertilização é de fêmeas. O resultado é que a bactéria é transmitida para a próxima geração. Esse tipo de reprodução, chamada de partenogênese, foi vista em muitos insetos e alguns anfíbios e repteis. Então fica a questão: a *Wolbachia* é sempre responsável?

As espécies eucarióticas são definidas como organismos que se reproduzem somente entre membros da própria espécie. Esse isolamento reprodutivo impede a produção de híbridos e, portanto, mantém a singularidade de cada espécie. Em laboratório, pesquisadores descobriram que, após um tratamento com antibióticos, as vespas de uma espécie produzirão prole híbrida com outra espécie. Isso levanta a questão sobre a influência que a *Wolbachia* tem na evolução dos insetos. Será que insetos não infectados se reproduzem com sucesso fora de sua espécie?

Uma linhagem virulenta de *Wolbachia* chamada de "pipoca" causa a lise, ou explosão, das células do hospedeiro, o que finalmente mata o inseto. Por um lado, a linhagem "pipoca" poderia ser utilizada para matar mosquitos. Por outro lado, a eliminação da *Wolbachia* de pragas poderia resultar em um número menor de fêmeas e, portanto, em uma redução do crescimento da população.

A biologia singular da *Wolbachia* tem atraído pesquisadores interessados em questões que vão desde as implicações evolutivas da infecção ao uso comercial da *Wolbachia*.

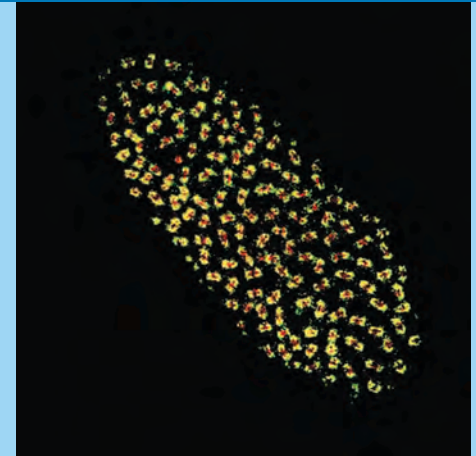
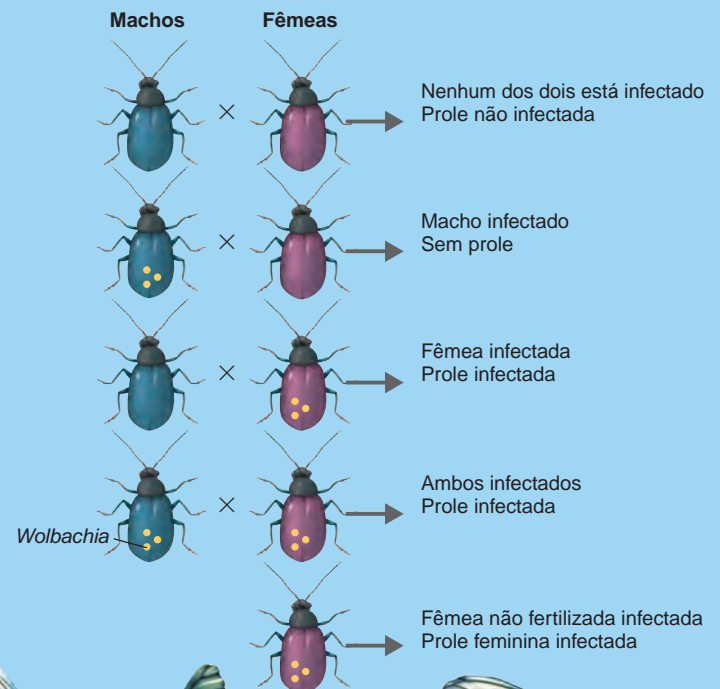



Figura A As *Wolbachia* são os pontos vermelhos dentro das células deste embrião de mosca-das-frutas.

Figura B Em um par infectado, somente as fêmeas podem se reproduzir

sintética. Sua locomoção se realiza por deslizamento. O mecanismo dessa mobilidade é a produção de limo, que se adere à superfície sobre a qual o movimento ocorre e também fornece a lubrificação, permitindo ao organismo deslizar.

Nutricionalmente, *B. alba* utiliza o sulfeto de hidrogênio (H_2S) como fonte de energia e acumula grânulos internos de enxofre. A capacidade desse organismo de obter energia a partir de compostos inorgânicos foi um fator importante na descoberta do metabolismo autotrófico.

Francisella. *Francisella* é um gênero de pequenas bactérias pleomórficas que crescem somente em meios complexos enriquecidos com sangue ou extratos de tecido. *Francisella tularensis* causa a doença tularemia.

Pseudomonales

Os membros da ordem *Pseudomonales* são bastonetes ou cocos gram-negativos aeróbicos. O gênero mais importante nesse grupo é *Pseudomonas*.

Pseudomonas. Um gênero muito importante, *Pseudomonas* consiste em bastonetes gram-negativos aeróbicos que se locomovem por um único flagelo polar ou por meio de tufos (**Figura 11.7**). As pseudomonas são muito comuns no solo e em outros ambientes naturais.

Muitas espécies de pseudomonas excretam pigmentos extracelulares e solúveis em água que difundem no seu próprio meio. Uma espécie, *Pseudomonas aeruginosa*, produz uma pigmentação solúvel verde-azulada. Sob certas condições, particularmente em hospedeiro enfraquecido, esse organismo pode infectar o trato urinário, queimaduras e feridas, e causar infecções sanguíneas (septicemia), abscessos e meningite. Outras pseudomonas produzem pigmentos solúveis fluorescentes que brilham quando iluminados por luz ultravioleta. Uma espécie, *P. syringae,* é um patógeno ocasional de plantas. (Algumas espécies de *Pseudomonas* foram transferidas, com base em estudos de rRNA, para o gênero *Burkholderia,* que foi discutido anteriormente com as beta-proteobactérias.)

Figura 11.7 ***Pseudomonas.*** Essa foto de um par de *Pseudomonas* mostra seus flagelos polares, que são uma característica do gênero. Em algumas espécies, somente um flagelo está presente (veja a Figura 4.7b, página 81). Note que uma célula (na parte inferior) está começando a se dividir.

P Como a diversidade nutricional dessas bactérias faz com que elas sejam um problema em hospitais?

As pseudomonas têm tantas capacidades genéticas quanto as leveduras eucarióticas e quase a metade das de uma mosca-das-frutas. Embora essas bactérias sejam menos eficientes que algumas bactérias heterotróficas na utilização de muitos nutrientes comuns, elas fazem uso das suas capacidades genéticas ao compensar isso de outras maneiras. Por exemplo, as pseudomonas sintetizam um grande número de enzimas e podem metabolizar uma ampla variedade de substratos. Portanto, elas provavelmente contribuem de modo significativo para a decomposição de compostos químicos incomuns, como os pesticidas que são adicionados ao solo.

Em hospitais e outros lugares onde agentes farmacêuticos são preparados, a capacidade das pseudomonas de crescer a partir de quantidades mínimas de fontes incomuns de carbono, como resíduos de sabão ou adesivos de revestimento de tampas encontrados em uma solução, tem sido um problema inesperado (veja o quadro na página 164). As pseudomonas são até capazes de crescer em alguns antissépticos, como compostos de amônio quaternário. Sua resistência à maioria dos antibióticos também tem sido uma fonte de preocupação médica. Essa resistência está provavelmente relacionada com as características das porinas da parede celular, que controlam a entrada de moléculas através da parede (veja o Capítulo 4, página 87). O grande genoma das pseudomonas codifica também diversos sistemas de bombas de efluxo bastante eficientes (página 575), que ejetam antibióticos da célula antes que eles possam atuar. As pseudomonas são responsáveis por uma em cada dez infecções nosocomiais (infecções adquiridas no hospital; veja a página 413), especialmente em unidades de queimados. Pessoas com fibrose cística também são especialmente predispostas à infecção por *Pseudomonas* e *Burkholderia*, que é intimamente relacionada.

Embora as pseudomonas sejam classificadas como aeróbicas, algumas são capazes de substituir o oxigênio pelo nitrato como aceptor final de elétrons. Este processo, a respiração anaeróbica, produz quase tanta energia quanto a respiração aeróbica (veja a página 132). Desse modo, as pseudomonas causam importantes perdas do nitrogênio disponível em fertilizantes e no solo. O nitrato (NO_3^-) é a forma de nitrogênio fertilizante mais facilmente utilizada pelas plantas. Sob condições anaeróbicas, como em solo alagado, as pseudomonas convertem esse nitrato precioso em gás nitrogênio (N_2), que é perdido na atmosfera (veja a Figura 27.4, página 770).

Muitas pseudomonas podem crescer a temperaturas de refrigerador. Essa característica, combinada com sua capacidade de utilizar proteínas e lipídeos, faz com que elas sejam um participante importante na deterioração de alimentos.

Azotobacter e Azomonas. Algumas bactérias fixadoras de nitrogênio, como *Azotobacter* e *Azomonas,* são de vida livre no solo. Essas grandes bactérias ovoides e fortemente encapsuladas com frequência são utilizadas em demonstrações da fixação de nitrogênio em laboratório. Contudo, para fixar quantidades significativas de nitrogênio para a agricultura, elas requerem fontes de energia, como carboidratos, que têm estoque limitado no solo.

Moraxella. Os membros do gênero *Moraxella* são cocobacilos – forma intermediária entre cocos e bastonetes – aeróbicos estritos. *Moraxella lacunata* está envolvida com a conjuntivite, uma infla-

mação da conjuntiva, a membrana que cobre o olho e reveste as pálpebras.

Acinotobacter. O gênero *Acitenobacter* é aeróbico e forma pares em preparações coradas. A bactéria ocorre naturalmente no solo e na água. Um membro desse gênero, *Acinotobacter baumanii*, é uma preocupação crescente para a comunidade médica devido à rapidez com a qual adquire resistência aos antibióticos. Algumas linhagens são resistentes a todos os antibióticos disponíveis. Ainda não disseminado nos Estados Unidos, *A. baumanii* é um patógeno oportunista encontrado essencialmente em ambiente hospitalar. A resistência a antibióticos, combinada com o enfraquecimento da saúde dos pacientes infectados em hospitais, resultou em uma alta taxa de mortalidade incomum. *A. baumanii* é essencialmente um patógeno respiratório, mas ele também infecta a pele, os tecidos conjuntivos, as feridas e ocasionalmente a corrente sanguínea. Ele é mais resistente ao ambiente do que a maioria das bactérias gram-negativas e, uma vez instalado em um hospital, é difícil de ser eliminado.

Legionellales

Os gêneros *Legionella* e *Coxiella* estão intimamente associados na segunda edição do *Bergey's Manual*, onde ambos são classificados na mesma ordem das *Legionellales.* Como as *Coxiella* compartilham um modo de vida intracelular com as riquétsias, elas foram inicialmente consideradas riquétsias e agrupadas com elas. As bactérias *Legionella* crescem facilmente em meios artificiais apropriados.

Legionella. As bactérias *Legionella* foram originalmente isoladas durante a busca da causa de um surto de pneumonia, conhecida como legionelose. A busca foi dificultada pelo fato de essas bactérias não crescerem nos meios usuais de isolamento em laboratório disponíveis na época. Após um esforço intensivo, um meio especial foi desenvolvido, o que permitiu aos pesquisadores isolar e cultivar as primeiras *Legionella*. Os micro-organismos deste gênero são agora conhecidos como relativamente comuns em corrente de água, e colonizam habitats como tubulações de fornecimento de água quente em hospitais e a água das torres de resfriamento dos sistemas de ar-condicionado (veja o quadro no Capítulo 24, página 691). A capacidade de sobreviver e se reproduzir dentro de amebas aquáticas faz com que elas sejam difíceis de ser erradicadas de sistemas de água.

Coxiella. A *Coxiella burnetti*, que causa a febre Q, foi inicialmente agrupada entre as riquétsias. Como elas, as *Coxiella* requerem uma célula hospedeira de mamífero para se reproduzir. Diferentemente das riquétsias, as *Coxiella* não são transmitidas entre humanos por picadas de insetos ou carrapatos. Embora os carrapatos de bovinos carreguem o organismo, ele é transmitido de maneira mais comum por aerossóis ou por leite contaminado. Um corpúsculo parecido com esporo está presente em *C. burnetti* (veja a Figura 24.14b, página 690). Isso pode explicar a resistência relativamente elevada da bactéria aos estresses da transmissão pelo ar e do tratamento pelo calor.

Vibrionales

Os membros dessa ordem são bastonetes gram-negativos anaeróbicos facultativos. Muitos são levemente curvos. Eles são encontrados principalmente em habitats aquáticos.

Figura 11.8 ***Vibrio cholerae.*** Observe a leve curvatura desses bastonetes, que é uma característica do gênero. Os círculos que aparecem na foto são os poros do filtro da membrana sobre a qual as bactérias são retidas.

P **Qual é a doença causada pelo *Vibrio cholerae*?**

Vibrio. Os membros do gênero *Vibrio* são bastonetes que, com frequência, são levemente curvos (**Figura 11.8**). Um importante patógeno é o *Vibrio cholerae*, o agente que causa a cólera. A doença é caracterizada por uma diarreia profusa e bastante líquida. *V. parahaemolyticus* causa uma forma menos grave de gastrenterite. Vivendo normalmente nas águas salgadas costeiras, ele é transmitido aos seres humanos principalmente por frutos do mar crus ou mal cozidos.

Enterobacteriales

Os membros da ordem *Enterobacteriales* são bastonetes gram-negativos anaeróbicos facultativos e que se locomovem por um flagelo peritríqueo. Morfologicamente, os bastonetes são retos. Esse é um importante grupo bacteriano, frequentemente chamado de **entérico**. Isso reflete o fato de que eles habitam o trato gastrintestinal do homem e de outros animais. A maioria dos entéricos é de fermentadores ativos da glicose e de outros carboidratos.

Por causa da importância clínica dos entéricos, existem muitas técnicas para seu isolamento e identificação. Um método de identificação de alguns entéricos é mostrado na Figura 10.9 (página 286), que incorpora uma ferramenta moderna utilizando 15 testes bioquímicos. Esses testes são especialmente importantes em trabalhos clínicos de laboratório e em microbiologia de alimentos e da água.

Os entéricos têm fímbrias que os ajudam na aderência a superfícies ou membranas mucosas. Os *pili* sexuais especializados auxiliam no troca de informação genética entre células, que frequentemente inclui resistência a antibióticos (veja as Figuras 8.26 e 8.27, páginas 237 e 238).

Os entéricos, como muitas bactérias, produzem proteínas chamadas de bacteriocinas, que causam a lise de espécies de bac-

térias intimamente relacionadas. As bacteriocinas podem ajudar a manter o equilíbrio ecológico de vários entéricos no intestino.

Escherichia. A espécie bacteriana *Escherichia coli* é um dos habitantes mais comuns do trato intestinal humano e provavelmente o organismo mais conhecido da microbiologia. Relembre de capítulos anteriores que muito se sabe sobre a bioquímica e a genética da *E. coli*, que continua sendo uma importante ferramenta para a pesquisa biológica básica – muitos pesquisadores a consideram um animal de laboratório. Sua presença na água e nos alimentos é uma indicação de contaminação fecal (veja o Capítulo 27, página 781). *E. coli* não é um patógeno comum; contudo, ela pode ser a causa de infecções do trato urinário, e algumas produzem enterotoxinas que causam a diarreia do viajante e ocasionalmente doença de origem alimentar grave (veja a *E. coli* O157:H7 no Capítulo 25, na página 714).

Salmonella. Quase todos os membros do gênero *Salmonella* são potencialmente patogênicos. Como consequência, existe uma grande quantidade de testes bioquímicos e sorológicos para isolar e identificar as salmonelas. Elas são habitantes comuns do trato intestinal de muitos animais, especialmente ave doméstica e gado. Em condições sanitárias inadequadas, podem contaminar alimentos.

A nomenclatura do gênero *Salmonella* é incomum. Em vez de muitas espécies, os membros do gênero *Salmonella,* que são infecciosos para os animais de sangue quente, podem ser considerados para finalidades práticas como uma única espécie *salmonella enterica*. Essa espécie é dividida em mais de 2.400 **sorovares**, ou seja, variedades sorológicas. O termo **sorotipo** frequentemente é utilizado significando a mesma coisa. Para dar uma explicação desses termos, quando as salmonelas são injetadas em um animal apropriado, seus flagelos, cápsulas e paredes celulares funcionam como *antígenos* que fazem o animal produzir *anticorpos* no seu sangue que são específicos para cada uma dessas estruturas. Portanto, meios *sorológicos* são utilizados para diferenciar os micro-organismos. A sorologia é discutida no Capítulo 18, mas por enquanto é suficiente dizer que ela pode ser utilizada para diferenciar e identificar bactérias.

Um sorovar como a *Salmonella typhimurium* não é uma espécie, sendo mais corretamente denominado *Salmonella enterica* sorovar *Typhimurium*. A convenção utilizada agora pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) é usar o nome completo na sua primeira menção e depois abreviá-lo, como por exemplo *Salmonella* Typhimurium. Para efeito de simplificação, identificaremos os sorovares de salmonelas neste texto como se fossem espécies, ou seja, *S. typhimurium*, etc.

Anticorpos específicos, que estão disponíveis comercialmente, podem ser utilizados para diferenciar os sorovares de *Salmonella* por um sistema conhecido como esquema de Kauffmann-White. Esse esquema designa um organismo por números e letras que correspondem aos antígenos específicos da cápsula, da parede celular e do flagelo do organismo, que são identificados pelas letras K, O e H, respectivamente. Por exemplo, a fórmula antigênica da bactéria *S. typhimurium* é O1,4,[5],12:H,i,1,2.* Muitas salmonelas são denominadas somente pelas fórmulas antigênicas. Os sorovares podem ser diferenciados posteriormente por propriedades bioquímicas ou fisiológicas especiais em **biovares** ou **biotipos**.

Um arranjo taxonômico recente com base na nova tecnologia molecular acrescenta outra espécie, *Salmonella bongori*. Ela reside em animais de sangue frio – foi isolada originalmente de um lagarto na cidade de Bongor na nação Chade do deserto africano e raramente é encontrada em humanos.

A febre tifoide, causada por *Salmonella typhi*, é a doença mais grave causada por membros do gênero *Salmonella*. Uma doença gastrintestinal menos grave causada por outras salmonelas é chamada de salmonelose, sendo uma das formas mais comuns de infecções de origem alimentar (veja o quadro no Capítulo 25, página 715).

Shigella. As espécies de *Shigella* são responsáveis por uma doença chamada de disenteria bacilar ou shigelose. Diferente das salmonelas, elas são encontradas em humanos. Algumas linhagens de *Shigella* podem causar uma disenteria potencialmente letal (Veja o Capítulo 25, página 712).

Klebsiella. Os membros do gênero *Klebsiella* são comumente encontrados no solo e na água. Muitos isolados são capazes de fixar o nitrogênio da atmosfera, o que foi proposto como uma vantagem nutricional quando encontrados em populações humanas com pouco nitrogênio proteico na dieta. A espécie *Klebsiella pneumoniae* ocasionalmente causa uma forma grave de pneumonia em humanos.

Serratia. *Serratia marcescens* é uma espécie bacteriana diferenciada por sua produção de um pigmento vermelho. Em hospitais, o organismo pode ser encontrado em cateteres, soluções salinas de irrigação e outras soluções supostamente estéreis. Tal contaminação é provavelmente a causa de muitas infecções urinárias e respiratórias em hospitais.

Proteus. Colônias da bactéria *Proteus* crescendo em ágar exibem um tipo de crescimento como um enxame. As células com essa característica com muitos flagelos (**Figura 11.9a**) se movem para fora das margens da colônia e revertem para células normais com somente um flagelo e uma mobilidade reduzida. Periodicamente, novas gerações de células de alta mobilidade aparecem, e o processo é repetido. Com o resultado, as colônias de *Proteus* têm uma aparência distinta de uma série de anéis concêntricos (**Figura 11.9b**). Esse gênero de bactéria está envolvido em muitas infecções do trato urinário e em feridas.

---

* As letras derivam de uma utilização originalmente alemã: K representa cápsula em alemão (*Salmonella* com cápsula são identificadas sorologicamente com um antígeno peculiar denominado Vi, para virulência). As colônias que se espalham em uma película fina sobre a superfície de um ágar foram descritas com a palavra alemã para película (*Hauch*). A mobilidade necessária para formar um filme implica a presença de flagelo, e a letra H foi utilizada para designar os antígenos de flagelo. Bactérias imóveis foram descritas como *ohne Hauch*, sem filme, e o O foi utilizado para designar a superfície celular ou os antígenos corporais. Essa terminologia também é utilizada para nomear *E. coli* O157:H7, *Vibrio cholerae* O:1 e outras.

(a) *Proteus mirabilis* com flagelos peritríqueos.

(b) Uma colônia em forma de enxame de *Proteus mirabilis*, mostrando anéis concêntricos de crescimento.

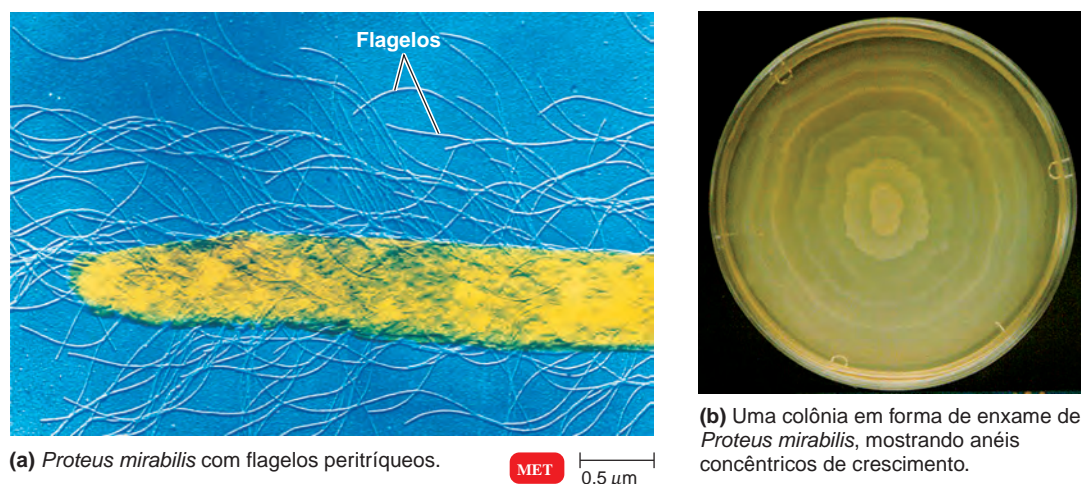



Figura 11.9 ***Proteus mirabilis.*** Comunicações químicas entre células bacterianas causam mudanças de células adaptadas para nadar em fluido (poucos flagelos) em células que são capazes de se mover em superfície (muitos flagelos). O crescimento concêntrico **(b)** resulta de conversões sincronizadas periódicas para a forma altamente flagelada capaz de movimento em superfície.

P A foto da célula de *Proteus* é provavelmente uma célula "enxameadora". Como você poderia saber?

Yersinia. *Yersinia pestis* é a responsável pela peste, a Morte Negra da Europa Medieval. Ratos urbanos de algumas partes do mundo e esquilos terrestres do Sudeste da América carregam essas bactérias. As pulgas geralmente transmitem os organismos entre os animais e os humanos, embora o contato com gotículas respiratórias também possa estar envolvido na transmissão.

Erwinia. As espécies de *Erwinia* são principalmente patógenos de plantas; algumas causam a podridão mole. Essas espécies produzem enzimas que hidrolisam a pectina entre as células individuais das plantas. Isso causa uma separação das células umas em relação às outras, uma doença que os fitopatologistas chamam de *podridão da planta*.

Enterobacter. Duas espécies de *Enterobacter, E. cloacae* e *E. aerogenes,* podem causar infecções do trato urinário e infecções hospitalares. Elas são amplamente distribuídas em humanos e animais, assim como na água, no esgoto e no solo.

Pasteurellales

As bactérias dessa ordem são imóveis; elas são mais conhecidas como patógenos de humanos e animais.

Pasteurella. Esse gênero é principalmente conhecido como um patógeno de animais domésticos. Ele causa septicemia no gado, cólera aviária em galinhas e outras aves, e pneumonia em vários tipos de animais. A espécie mais conhecida é *Pasteurella multocida,* transmitida aos seres humanos por mordidas de cachorro e gato. Essa espécie também é um membro predominante da microbiota da saliva do dragão de Komodo, um grande réptil relativamente lento de uma ilha da Indonésia, que morde as presas e espera vários dias por sua morte. O dragão de Komodo não é venenoso, mas sua presa morre pela infecção por uma linhagem especialmente virulenta de *P. multocida* introduzida pela mordida.

Haemophilus. *Haemophilus* é um gênero muito importante de bactéria patogênica. Esses organismos são encontrados nas membranas mucosas do trato respiratório superior, na boca, na vagina e no trato intestinal. A espécie mais conhecida que afeta os humanos é *Haemophilus influenzae* que tem esse nome devido a uma crença errônea muito antiga de que ele fosse o responsável pela influenza.

O nome *Haemophilus* é derivado da necessidade de sangue no meio de cultura da bactéria (*hemo* = sangue). Eles são incapazes de sintetizar partes importantes do sistema de citocromo necessárias para a respiração, obtendo essas substâncias da fração heme, conhecida como **fator X**, da hemoglobina sanguínea. O meio de cultura também deve fornecer o cofator nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+ ou $NADP^+$), conhecido como **fator V**. Os laboratórios clínicos utilizam testes que envolvem a necessidade dos fatores X e V para identificar isolados de espécies de *Haemophilus*.

Haemophilus influenzae é responsável por diversas doenças importantes. Ele tem sido uma causa comum de meningite em crianças jovens e uma causa frequente de dor de ouvido. Outras condições clínicas causadas por *H. influenzae* incluem epiglotite (uma condição potencialmente letal em que a epiglote fica infectada e inflamada), artrite séptica em crianças, bronquite e pneumonia. *Haemophilus ducreyi* é a causa da doença sexualmente transmissível conhecida como cancro mole.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as ordens de gama-proteobactérias descritas neste capítulo. **11-3**

As delta-proteobactérias

As delta-proteobactérias são diferentes, pois incluem algumas bactérias que são predadoras de outras bactérias. Os membros desse grupo também são contribuintes do ciclo do enxofre.

Bdellovibrio. *Bdellovibrio* é um gênero particularmente interessante. Os membros atacam outras bactérias gram-negativas, aderindo-se firmemente (*bdella* = sanguessuga) e, após ter penetrado a camada externa da bactéria gram-negativa, reproduzem-se no espaço periplásmico. Lá, a célula se alonga em uma espiral estreita que então se fragmenta quase que simultaneamente em várias células individuais flageladas. A seguir, a célula hospedeira se rompe, liberando as células de *Bdellovibrio*.

Desulfovibrionales

Os membros dessa ordem são bactérias redutoras de enxofre. Elas são organismos anaeróbicos obrigatórios que utilizam formas oxidadas de enxofre, como sulfatos (SO_4^{2-}) ou enxofre elementar (S^0), em vez do oxigênio como aceptor de elétrons. O produto dessa redução é o sulfeto de hidrogênio (H_2S) (como o H2S não é assimilado como nutriente, esse tipo de metabolismo é chamado de *dissimilatório*). A atividade dessas bactérias libera milhões de toneladas de H_2S na atmosfera a cada ano e elas desempenham um papel importante no ciclo do enxofre (veja a Figura 27.7, página 774). As bactérias que oxidam o enxofre, como as *Beggiatoa*, são capazes de utilizar o H_2S como uma parte da fotossíntese ou como fonte autotrófica de energia.

Desulfovibrio. O gênero de bactéria redutora de enxofre mais estudado é o *Desulfovibrio*, que é encontrado em sedimentos anaeróbicos e no trato intestinal de humanos e animais. As bactérias redutoras de enxofre e redutoras de sulfato utilizam compostos orgânicos, como lactato, etanol ou ácidos graxos, como doadores de elétrons, reduzindo o enxofre ou o sulfato H_2S. Quando o H_2S reage com o ferro, ele forma o FeS insolúvel, que é responsável pela cor preta de muitos sedimentos.

Figura 11.10 ***Bdellovibrio bacteriovorus.*** A bactéria amarela é o *B. bacteriovorus*, que está atacando uma outra bactéria, mostrada em azul.

P Esta bactéria seria capaz de atacar o *Staphylococcus aureus*?

Myxococcales

Na primeira edição do *Bergey's Manual*, as *Myxococcales* foram classificadas entre as bactérias frutificantes e deslizantes. Elas ilustram o ciclo de vida mais complexo de todas as bactérias; parte dele predatório sobre outras bactérias.

Myxococcus. As células vegetativas das mixobactérias (*myxo* = mucosa nasal) se movem por deslizamento, deixando um rastro viscoso. *Myxococcus xanthus* e *M. fulvus* são representantes bastante estudados do gênero. À medida que se movem, sua fonte de nutrientes são as bactérias que eles encontram, destroem enzimaticamente e digerem. Um grande número dessas bactérias gram-negativas eventualmente se agrega (**Figura 11.11a**). Onde as células em movimento se agregam, elas se diferenciam e formam um corpo de frutificação pedunculado que contém um grande número de células em repouso chamadas de *mixósporos* (**Figura 11.11b**). A diferenciação geralmente é induzida por baixos níveis de nutrientes. Em condições apropriadas, como uma mudança de nutrientes, os mixósporos germinam e formam novas células vegetativas deslizantes. Você pode observar a semelhança com o ciclo de vida dos fungos eucarióticos gelatinosos na Figura 12.22 (página 353).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as delta-proteobactérias descritas neste capítulo. **11-4**

As epsilon-proteobactérias

As epsilon-proteobactérias são bastonetes gram-negativos delgados com forma helicoidal ou curva. Discutiremos dois importantes gêneros, que se locomovem por flagelos e são microaerofílicos

Campylobacter. Os membros do gênero *Campylobacter* são vibriões microaerofílicos; cada célula tem um flagelo polar. Uma espécie *de Campylobacter,* o *C. fetus*, causa aborto espontâneo em animais domésticos. Outra espécie, o *C. jejuni*, é a principal causa de surtos de doença intestinal de origem alimentar.

Helicobacter. Membros do gênero *Helicobacter* são bastonetes curvos microaerofílicos com flagelos múltiplos. A espécie *Helicobacter pylori* foi identificada como a causa mais comum de úlceras pépticas nos seres humanos e uma das causas de câncer do estômago (**Figura 11.12**; veja também a Figura 25.13, página 719).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as epsilon-proteobactérias descritas neste capítulo. **11-5**

6 Corpo de frutificação maduro (esporangíolos contêm mixosporos)

1 Mixosporos

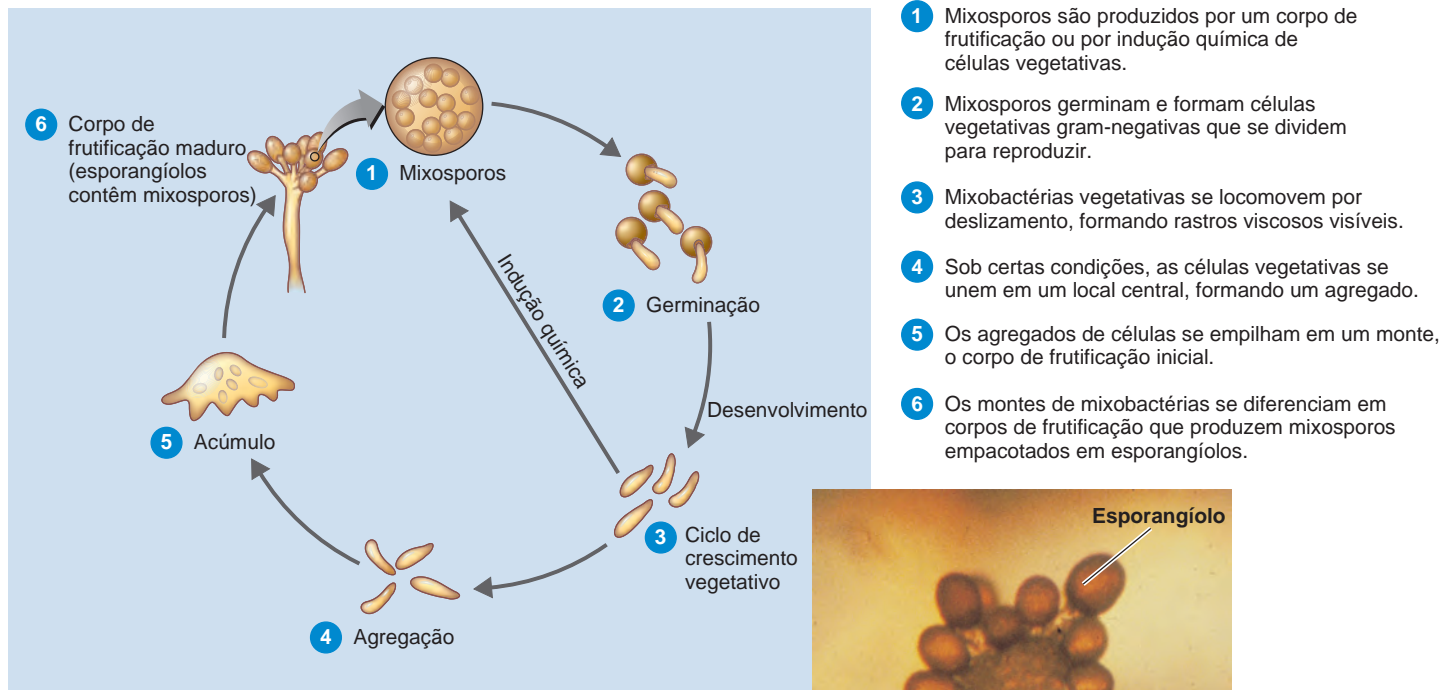
2 Germinação

Indução química

Desenvolvimento

3 Ciclo de crescimento vegetativo

4 Agregação

5 Acúmulo

(a) Ciclo de vida de *Myxococcales.*

1. Mixosporos são produzidos por um corpo de frutificação ou por indução química de células vegetativas.
2. Mixosporos germinam e formam células vegetativas gram-negativas que se dividem para reproduzir.
3. Mixobactérias vegetativas se locomovem por deslizamento, formando rastros viscosos visíveis.
4. Sob certas condições, as células vegetativas se unem em um local central, formando um agregado.
5. Os agregados de células se empilham em um monte, o corpo de frutificação inicial.
6. Os montes de mixobactérias se diferenciam em corpos de frutificação que produzem mixosporos empacotados em esporangíolos.

Esporangíolo

MO 2,5 μm

(b) Corpo frutificante de uma mixobactéria; os esporangíolos contêm mixosporos.

Figura 11.11 ***Myxococcales.***

P Qual é a fase nutricional desse organismo?

MET 1 μm

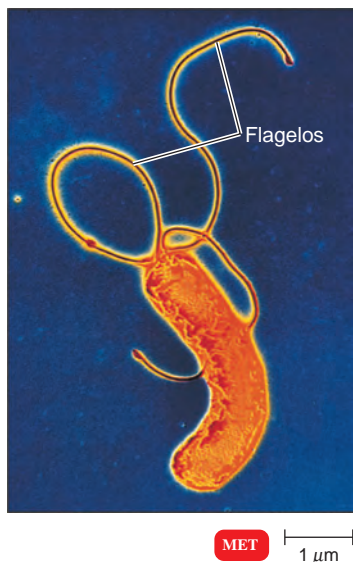



Figura 11.12 ***Helicobacter pylori.*** *H. pylori*, um bastonete curvo, é um exemplo de bactéria helicoidal que não faz uma espiral completa.

P Como as bactérias helicoidais diferem das espiroquetas?

Bactérias gram-negativas não proteobactérias

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

11-6 Diferenciar os grupos de bactérias gram-negativas não proteobactérias descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

11-7 Comparar e diferenciar as bactérias fotossintéticas púrpuras e verdes das cianobactérias.

Existe um grupo de bactérias gram-negativas importantes que não são intimamente relacionadas com as proteobactérias gram-negativas. Elas incluem diversas bactérias fotossintéticas fisiológica e morfologicamente distintas, como aquelas incluídas nos filos *Cyanobacteria* (cianobactérias), *Chlorobi* (bactérias verdes sulfurosas) e *Chloroflexi* (bactérias verdes não sulfurosas). As cianobactérias produzem oxigênio durante a fotossíntese (são *oxigênicas*) e as bactérias verdes sulfurosas e não sulfurosas não produzem oxigênio (são *anoxigênicas*). Esses grupos estão resumidos na **Tabela 11.2**.

Cianobactérias (bactérias fotossintéticas oxigênicas)

As cianobactérias, chamadas assim devido a sua pigmentação azul-esverdeada (*ciano*) característica, já foram denominadas algas azul-

Tabela 11.2 Características selecionadas das bactérias fotossintetizadoras

Nome comum	Exemplo	Filo	Comentários	Doador de elétrons para redução de CO_2	Oxigênico ou anoxigênico
Cianobactérias	*Anabaena*	*Cyanobacteria*	Fotossíntese similar à das plantas; algumas utilizam a fotossíntese bacteriana sob condições anaeróbicas	Geralmente H_2O	Geralmente oxigênicas
Bactérias verdes não sulfurosas	*Chloroflexus*	*Chloroflexi*	Crescimento quimio-heterotrófico em ambiente aeróbico	Compostos orgânicos	Anoxigênicas
Bactérias verdes sulfurosas	*Chlorobium*	*Chlorobi*	Depósito de grânulos de enxofre dentro da célula	Geralmente H_2S	Anoxigênicas
Bactérias púrpuras não sulfurosas	*Rhodospirillum*	*Proteobacteria*	Também pode ter crescimento quimio-heterotrófico	Compostos orgânicos	Anoxigênicas
Bactérias púrpuras sulfurosas	*Chromatium*	*Proteobacteria*	Depósito de grânulos de enxofre dentro da célula	Geralmente H_2S	Anoxigênicas

-esverdeadas. Embora elas se pareçam com as algas eucarióticas e muitas vezes ocupem os mesmos nichos ambientais, esse nome é equivocado, pois são bactérias e as algas não. Contudo, as cianobactérias realizam fotossíntese oxigênica, assim como as plantas e as algas eucarióticas (Capítulo 12). Muitas das cianobactérias são capazes de fixar nitrogênio da atmosfera. Na maioria dos casos, essa atividade é localizada em células especializadas chamadas de **heterocistos**, que contêm enzimas que fixam o gás nitrogênio (N_2) em amônia (NH_4^+), que pode ser utilizada pela célula em crescimento (**Figura 11.13a**). As espécies que crescem na água geralmente têm vacúolos gasosos que fornecem um meio de flutuação, ajudando a célula a se deslocar até um ambiente favorável. As cianobactérias que se movem em superfícies sólidas utilizam a motilidade por deslizamento.

As cianobactérias são morfologicamente variadas. Elas vão desde formas unicelulares que se dividem por fissão binária simples (**Figura 11.13b**) até formas coloniais que se dividem por fissão múltipla e formas filamentosas que se reproduzem por fragmentação dos filamentos. As formas filamentosas geralmente exibem alguma diferenciação das células, que muitas vezes estão unidas dentro de um envelope ou bainha.

Evidências indicam que as cianobactérias oxigênicas tiveram um papel importante no desenvolvimento da vida na Terra, que originalmente tinha pouco oxigênio livre para dar suporte à vida como conhecemos. Evidências de fósseis indicam que, quando as cianobactérias apareceram, a atmosfera continha somente 0,1% de oxigênio livre. Quando as plantas eucarióticas produtoras de oxi-

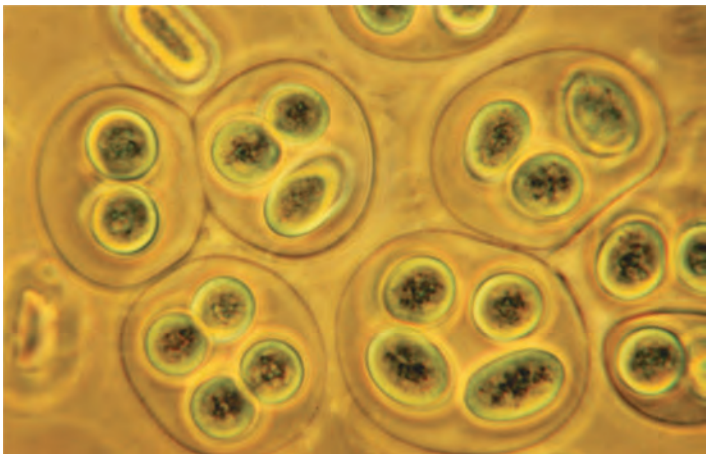
(a) Cianobactérias filamentosas mostrando heterocistos, nos quais a atividade de fixação de nitrogênio é localizada.

(b) Uma cianobactéria unicelular não filamentosa, *Gloeocapsa*. Grupos dessas células, que se dividem por fissão binária, são mantidos unidos por um envoltório de glicocálice.

Figura 11.13 Cianobactérias.

P **Como a fotossíntese das cianobactérias difere daquela realizada pelas bactérias púrpuras sulfurosas?**

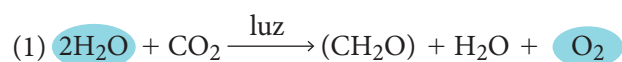
gênio apareceram milhões de anos mais tarde, a concentração de oxigênio era de mais de 10%. O aumento provavelmente foi resultado da atividade fotossintética das cianobactérias. A atmosfera que respiramos hoje contém cerca de 20% de oxigênio.

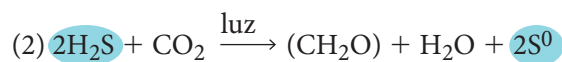
As cianobactérias, especialmente aquelas que fixam nitrogênio, são extremamente importantes para o ambiente. Elas ocupam nichos ambientais similares aos ocupados pelas algas eucarióticas (veja a Figura 12.10, página 341), mas a capacidade de muitas das cianobactérias de fixar nitrogênio as torna ainda mais adaptadas a ambientes pobres nutricionalmente. O papel ambiental das cianobactérias é apresentado mais detalhadamente no Capítulo 27, na discussão da eutrofiação (o superenriquecimento nutricional dos corpos de água).

Bactérias fotossintéticas púrpuras e verdes (bactérias fotossintéticas anoxigênicas)

As bactérias fotossintéticas são taxonomicamente confusas. Os filos *Cyanobacteria, Chlorobi* e *Chloroflexi* são gram-negativos, mas não estão geneticamente incluídos nas proteobactérias. As bactérias fotossintéticas púrpuras sulfurosas e as bactérias púrpuras não sulfurosas estão geneticamente incluídas, respectivamente, nas alfa-proteobactérias e gama-proteobactérias. Contudo, para simplificar, vamos discuti-las agora. Essas bactérias fotossintéticas, que não são necessariamente púrpuras ou verdes, em geral são anaeróbicas. Seu habitat costuma ser os sedimentos profundos de lagos e lagoas. Como as plantas, as algas e as cianobactérias, as bactérias púrpuras e verdes realizam fotossíntese para produzir carboidratos (CH_2O). Como crescem nas profundezas aquáticas, essas bactérias possuem bacterioclorofila, que utiliza uma parte do espectro visível que não é interceptado pelos organismos fotossintéticos situados nos níveis superiores. Além disso, e diferentemente das plantas, a fotossíntese das bactérias púrpuras e verdes é anoxigênica.

As cianobactérias, como as plantas eucarióticas e as algas, produzem oxigênio (O_2) a partir da água (H_2O) durante a fotossíntese:

$$(1)\ 2H_2O + CO_2 \xrightarrow{\text{luz}} (CH_2O) + H_2O + O_2$$

As *bactérias púrpuras* e *verdes sulfurosas* utilizam compostos reduzidos de enxofre, como o sulfeto de hidrogênio (H_2S), em vez de água, e produzem grânulos de enxofre (S^0) em vez de oxigênio, como segue:

$$(2)\ 2H_2S + CO_2 \xrightarrow{\text{luz}} (CH_2O) + H_2O + 2S^0$$

Chromatium, mostrado na **Figura 11.14**, é um gênero representativo. Certa vez, uma questão importante em biologia foi levantada sobre a fonte do oxigênio produzido pela fotossíntese das plantas: esse oxigênio era produzido a partir de CO_2 ou de H_2O? Com a introdução dos marcadores radioativos, que permitiu rastrear o oxigênio na água e no dióxido de carbono, a questão foi finalmente resolvida, e a comparação das equações 1 e 2 foi a melhor evidência de que a fonte de oxigênio é realmente H_2O. É importante também comparar essas duas equações para entender como compostos reduzidos do enxofre, como H_2S, podem substituir H_2O na fotossíntese. Veja "Vida sem a Luz Solar", na página 773.

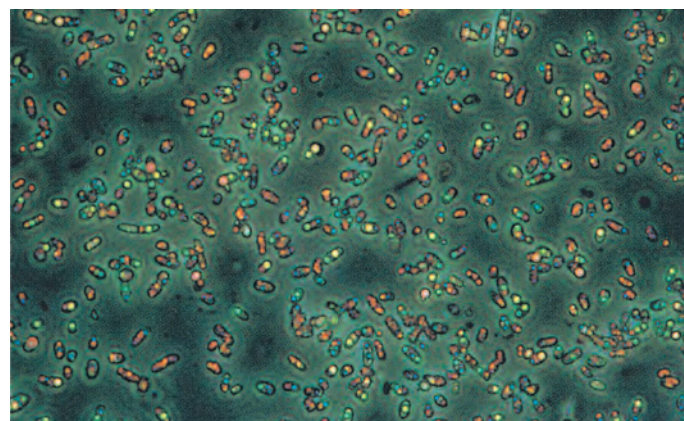



Figura 11.14 **Bactérias púrpuras sulfurosas.** Essa microfotografia de células do gênero *Chromatium* mostra os grânulos intracelulares de enxofre como objetos multicoloridos e refratários. A razão do acúmulo de enxofre pode ser resumida pela observação da equação 2 na discussão.

P **O que significa *anoxigênico*?**

Outros fotoautotróficos, as *bactérias púrpuras não sulfurosas* e *verdes não sulfurosas* utilizam compostos orgânicos, como ácidos e carboidratos, para a redução fotossintética do dióxido de carbono.

Morfologicamente, as bactérias fotossintéticas são muito variadas, podendo ser espirais, bastonetes, cocos e até mesmo formadoras de brotos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as não proteobactérias gram-negativas descritas neste capítulo. **11-6**

✓ As bactérias fotossintéticas púrpuras e verdes e também as cianobactérias fotossintéticas utilizam uma fotossíntese similar à das plantas. De que modo a fotossíntese realizada por esses dois grupos difere da fotossíntese das plantas? **11-7**

Bactérias gram-positivas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

11-8 Diferenciar os gêneros de *Firmicutes* descritos neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

11-9 Diferenciar as *Actinobacteria* descritas neste capítulo pelo desenho de uma chave dicotômica.

As bactérias gram-positivas podem ser divididas em dois grupos: aquelas que têm um alto índice de G + C e aquelas que têm um baixo índice de G + C (veja "Ácidos Nucleicos", página 45). Para ilustrar as variações no índice de G + C, o gênero *Streptococcus* tem um baixo conteúdo de 33 a 44%; e o gênero *Clostridium* tem um baixo

Figura 11.15 ***Clostridium tetani.*** Os endosporos dos clostrídios geralmente deformam a parede celular, como mostrado aqui.

P Qual característica fisiológica faz de *Clostridium* um problema na contaminação de feridas profundas?

Figura 11.16 **Um procarioto gigante, *Epulopiscium fishelsoni*.**

P Por que o *Epulopiscium* não é do mesmo domínio do *Paramecium*?

conteúdo de 21 a 54%. Incluídos nas bactérias gram-positivas com baixo índice de G + C estão os micoplasmas, apesar de não terem parede celular e, portanto, não apresentarem reação de Gram. Seu índice de G + C é de 23 a 40%.

Em contraste, os actinomicetos filamentosos do gênero *Streptomyces* têm um conteúdo de G + C elevado, de 69 a 73%. As bactérias gram-positivas de morfologia mais convencional, como os gêneros *Corynebacterium* ou *Mycobacterium*, têm um conteúdo de G + C de 51 a 63% e 62 a 70%, respectivamente.

Esses grupos bacterianos estão classificados em filos separados: *Firmicutes* (**baixos índices de G + C**) e *Actinobacteria* (**altos índices de G + C**).

Firmicutes (bactérias gram-positivas com baixo índice de G + C)

As bactérias gram-positivas de baixo índice de G + C são classificadas no filo *Firmicutes*. Esse grupo inclui bactérias formadoras de endosporos importantes, como os gêneros *Clostridium* e *Bacillus*. Também de extrema importância em microbiologia médica são os gêneros *Staphylococcus, Enterococcus* e *Streptococcus*. Na microbiologia industrial, o gênero *Lactobacillus,* que produz o ácido lático, também é bem conhecido. Os micoplasmas, que não possuem parede celular, também são encontrados nesse filo.

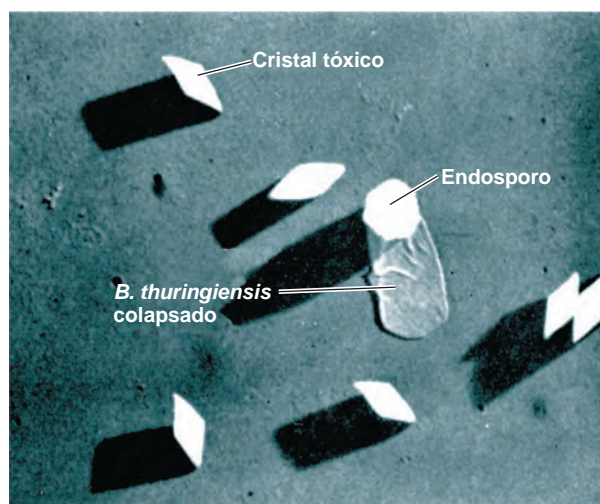
Clostridiales

Clostridium. Os membros do gênero *Clostridium* são anaeróbicos obrigatórios. As células em forma de bastonetes contêm endosporos que geralmente deformam a célula (**Figura 11.15**). A formação de endosporos pelas bactérias é importante tanto para a medicina quanto para a indústria alimentar, devido à resistência dos endosporos ao calor e a muitos compostos químicos. As doenças associadas aos clostrídios incluem o tétano, causado por *C. tetani*; o botulismo, causado por *C. botulinum*; e a gangrena gasosa, causada por *C. perfringens* e outros clostrídios. *C. perfringens* também é a causa de uma forma comum de diarreia de origem alimentar. *C. difficile* é um habitante do trato intestinal que pode causar uma diarreia séria. Isso ocorre somente quando uma terapia com antibiótico altera a microbiota intestinal normal, permitindo o supercrescimento pela bactéria produtora de toxina *C. difficile*.

Epulopiscium. Os biólogos há muito tempo consideram que as bactérias são pequenas porque não possuem os sistemas de transporte de nutrientes utilizados pelos organismos eucarióticos e porque dependem da difusão simples para obter nutrientes superiores. Essas características pareciam ser essenciais para limitar o tamanho. Então, quando um organismo com a forma de charuto, vivendo em simbiose no intestino do peixe-cirurgião do Mar Vermelho, foi observado pela primeira vez em 1985, acreditou-se que fosse um protozoário. Certamente seu tamanho sugeria essa classificação, pois media 80 μm × 600 μm – mais que meio milímetro de comprimento – grande o suficiente para ser visto a olho nu (**Figura 11.16**). Comparado à conhecida bactéria *E. coli,* que mede cerca de 1 μm × 2 μm, este organismo seria aproximadamente um milhão de vez maior em volume.

Estudos posteriores do novo organismo mostraram que certas estruturas externas que pareciam cílios de protozoários eram na realidade similares a flagelos bacterianos e não apresentavam núcleo envolto por membrana. A análise do RNA ribossômico colocou de maneira definitiva o *Epulopiscium* entre os procariotos (seu nome significa "convidado em um banquete de um peixe", pois está literalmente banhado em alimento semidigerido). Ele se parece

Figura 11.17 ***Bacillus.***

P **Qual estrutura é produzida tanto por *Clostridium* quanto por *Bacillus*?**

(a) *Bacillus thuringiensis*. Os cristais em forma de diamante mostrados perto do endosporo são tóxicos para os insetos que os ingerem. Essa micrografia eletrônica foi feita utilizando a técnica de sombreamento, descrita na página 63.

MET 2,5 μm

(b) *Bacillus cereus*. Essa célula de *B. cereus* é mostrada emergindo do endosporo.

mais com bactérias gram-positivas do gênero *Clostridium*. Estranhamente, a espécie *Epulopiscium fishelsoni* não se reproduz por fissão binária. Células-filhas formadas dentro da célula são liberadas através de uma fenda aberta na célula parental. Isto pode estar relacionado com o desenvolvimento evolutivo da esporulação.

Recentemente foi descoberto que essa bactéria não conta com a difusão para distribuir nutrientes. Em vez disso, ela utiliza suas amplas capacidades genéticas – possui 25 vezes mais DNA que uma célula humana e pelo menos 85.000 cópias de um gene – para fabricar proteínas nos locais internos onde são necessárias (descreveremos outra bactéria gigante descoberta recentemente, a *Thiomargarita*, na página 326).

Bacillales

A ordem *Bacillales* inclui vários gêneros importantes de bastonetes e cocos gram-positivos.

Bacillus. As bactérias do gênero *Bacillus* são tipicamente bastonetes que produzem endosporos. Elas são comuns no solo, e somente algumas são patogênicas para humanos. Várias espécies produzem antibióticos.

O *Bacillus anthracis* causa o antraz, uma doença qua ataca gado, ovelhas e cavalos e que pode ser transmitida a humanos, sendo frequentemente mencionado como um possível agente em guerras biológicas (veja o quadro no Capítulo 23, página 644). O bacilo do antraz é anaeróbico facultativo e imóvel, muitas vezes formando cadeias em cultura. O endosporo de localização central não deforma a parede. O *Bacillus thuringiensis* é provavelmente o patógeno de insetos mais conhecido (**Figura 11.17a**). Ele produz cristais intracelulares quando esporula. Preparações comerciais contendo endosporos e toxina cristalina (Bt) dessa bactéria são vendidas em lojas de artigos para jardinagem para serem espalhadas sobre as plantas. O *Bacillus cereus* (**Figura 11.17b**) é uma bactéria comum no meio ambiente e ocasionalmente é identificada como a causa de intoxicação alimentar, especialmente em alimentos contendo amido, como o arroz.

As três espécies do gênero *Bacillus* que acabamos de descrever são extremamente diferentes em diversos aspectos, em especial nas suas capacidades de causar doença. Contudo, elas são tão intimamente relacionadas que os taxonomistas as consideram variantes de uma mesma espécie, diferindo essencialmente por genes carreados

Figura 11.18 ***Staphylococcus aureus.*** Observe os agregados em forma de cacho de uva desses cocos gram-positivos.

P Qual é a vantagem ecológica de um pigmento?

em plasmídeos, que são facilmente transferidos de uma bactéria para outra.

Staphylococcus. Os estafilococos tipicamente ocorrem em agregados em forma de cacho de uva (**Figura 11.18**). A espécie mais importante de estafilococos é *Staphylococcus aureus,* assim denominada pela pigmentação amarelada das suas colônias. Os membros dessa espécie são anaeróbicos facultativos.

Algumas características dos estafilococos são responsáveis por sua patogenicidade, que apresenta várias formas. Eles crescem comparativamente bem sob condições de pressão osmótica elevada e baixa umidade, o que explica parcialmente porque podem crescer e sobreviver nas secreções nasais (muitos de nós carregam as bactérias no nariz) e na pele. Isto também explica como *S. aureus* pode crescer em alguns alimentos com alta pressão osmótica (como presunto e outras carnes curtidas) ou em alimentos com baixa umidade que tendem a inibir o crescimento de outros organismos. O pigmento amarelo provavelmente confere alguma proteção para os efeitos antimicrobianos do sol.

S. aureus produz muitas toxinas que contribuem para a patogenicidade da bactéria, aumentando sua capacidade de invadir o corpo e danificar os tecidos. A infecção de feridas cirúrgicas por *S. aureus* é um problema comum em hospitais; e a capacidade de desenvolver rapidamente resistência a antibióticos como a penicilina contribui para seu perigo para pacientes em ambientes hospitalares (veja o quadro do Capítulo 14, página 422). *S. aureus* produz a toxina responsável pela síndrome do choque tóxico, uma infecção grave caracterizada por febre alta, vômitos e algumas vezes morte. *S. aureus* também produz uma **enterotoxina** que causa vômitos e náusea quando ingerida; uma das causas mais comuns de intoxicação alimentar.

Lactobacillales

Diversos gêneros importantes são encontrados na ordem *Lactobacillales*. O gênero *Lactobacillus* é representativo da importância das bactérias produtoras de ácido lático para a indústria. A maioria não tem um sistema de citocromo e não é capaz de utilizar o oxigênio como aceptor de elétrons. Contudo, diferentemente da maioria dos anaeróbicos obrigatórios, elas são aerotolerantes e capazes de crescer na presença de oxigênio. Entretanto, em comparação com os micro-organismos que utilizam o oxigênio, elas crescem pouco. Porém, a produção de ácido lático a partir de carboidratos simples inibe o crescimento de organismos competidores e permite que eles cresçam de maneira competitiva apesar de sua ineficiência metabólica. O gênero *Streptococcus* possui as mesmas características metabólicas do gênero *Lactobacillus*. Existem diversas espécies importantes industrialmente, mas os estreptococos são mais conhecidos por sua patogenicidade. Os gêneros *Enterococcus* e *Listeria* são mais convencionais metabolicamente; ambos são anaeróbicos facultativos e várias espécies são patógenos importantes.

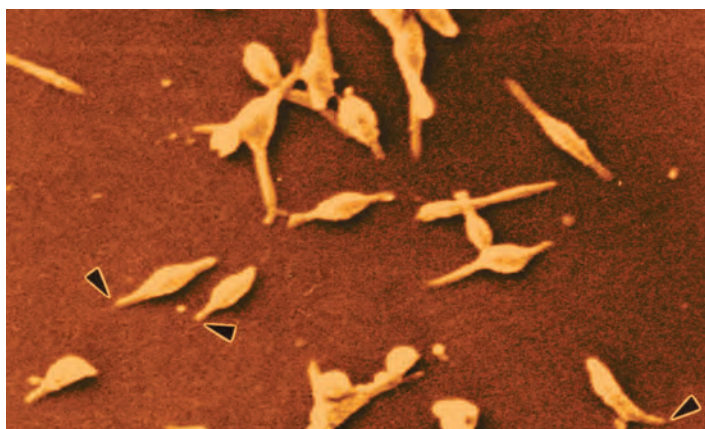
Figura 11.19 ***Streptococcus.*** Observe as cadeias de células características da maioria dos estreptococos. Muitas das células esféricas estão se dividindo e têm uma forma quase oval - especialmente quando vistas ao microscópio óptico, que tem um aumento menor do que essa micrografia eletrônica.

P Como o arranjo dos *Streptococcus* difere daquele dos *Staphylococcus*?

Lactobacillus. Nos humanos, as bactérias do gênero *Lactobacillus* são localizadas na vagina, no trato intestinal e na cavidade oral. Os lactobacilos são utilizados comercialmente na produção de chucrute, picles, leitelho e iogurte. Tipicamente, uma sucessão de lactobacilos, cada um mais tolerante a ácido que seu predecessor, participa nas fermentações do ácido lático.

Streptococcus. Os membros do gênero *Streptococcus* são bactérias gram-positivas esféricas, que tipicamente aparecem em cadeias (**Figura 11.19**). Eles são um grupo complexo do ponto de vista taxonômico, provavelmente responsável por mais infecções e causando uma variedade maior de doenças que qualquer outro grupo de bactérias.

Os estreptococos patogênicos produzem várias substâncias extracelulares que contribuem para sua patogenicidade. Entre elas estão os produtos que destroem as células fagocíticas, que os ingerem. As enzimas produzidas por alguns estreptococos disseminam infecções ao digerirem o tecido conjuntivo do hospedeiro, levando a uma destruição extensa dos tecidos (veja a discussão sobre fasciite

MEV 0,8 μm

(a) Células individuais de *M. pneumoniae*. As setas indicam estruturas terminais que provavelmente auxiliam na adesão às células eucarióticas, que se tornam então infectadas.

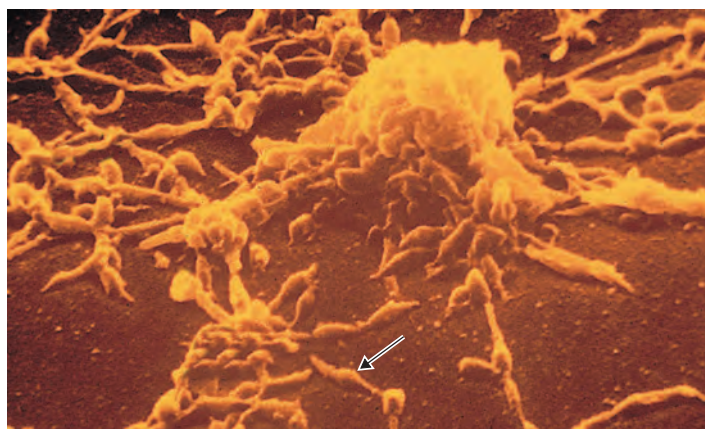
MEV 1,5 μm

(b) Essa micrografia mostra o crescimento filamentoso de *M. pneumoniae*. Algumas células individuais também podem ser vistas (seta). O organismo se reproduz por fragmentação dos filamentos nas saliências.

Figura 11.20 ***Mycoplasma pneumoniae.*** Bactérias como *M. pneumoniae* não têm parede celular e sua morfologia é irregular (pleomórfica).

P **Como a estrutura celular dos micoplasmas pode ser responsável pelo seu pleomorfismo?**

necrosante na página 591). Infecções também podem se disseminar a partir do local de lesão por enzimas que provocam a lise da fibrina (uma proteína fibrosa) de coágulos sanguíneos.

Algumas espécies de estreptococos não patogênicos são importantes na produção de laticínios (veja o Capítulo 28, página 798).

Estreptococos beta-hemolíticos. Uma base útil para a classificação de alguns estreptococos é a aparência das suas colônias quando crescem em ágar-sangue. As espécies *beta-hemolíticas* produzem uma hemolisina que forma um halo claro de hemólise no ágar-sangue (veja a Figura 6.9, página 168). Esse grupo inclui o principal patógeno dos estreptococos, o *Streptococcus pyogenes*, também conhecido como estreptococo beta-hemolítico do grupo A. O grupo A representa um componente de um grupo antigênico (A até G) dentro dos estreptococos hemolíticos. Entre as doenças causadas pelo *S. pyogenes* estão febre escarlatina, faringite (dor de garganta), erisipela, impetigo e febre reumática. O fator de virulência mais importante é a proteína M da superfície bacteriana (veja a Figura 21.6, página 591) com a qual as bactérias evitam a fagocitose. Outro membro dos estreptococos beta-hemolíticos é o *Streptococcus agalactiae*, do grupo beta-hemolítico B. Essa é a única espécie no grupo antigênico B e é a causa de uma importante doença que ocorre em recém-nascidos, a septicemia neonatal.

Estreptococos não beta-hemolíticos. Certos estreptococos não são beta-hemolíticos, mas quando crescem em ágar-sangue, suas colônias são circundadas por uma cor esverdeada característica. São os estreptococos *alfa-hemolíticos*. A cor esverdeada representa uma destruição parcial das hemácias causada essencialmente pela ação do peróxido de hidrogênio produzido pelas bactérias, e aparece somente quando as bactérias são cultivadas na presença de oxigênio. O patógeno mais importante nesse grupo é o *Streptococcus pneumoniae*, a causa da pneumonia por pneumococos. Também são incluídas nos estreptococos alfa-hemolíticos as espécies chamadas de *Streptococcus viridans*. Contudo, nem todas as espécies formam a cor esverdeada alfa-hemolítica (*virescent* = verde), de modo que não é um nome de grupo satisfatório. Provavelmente o patógeno mais significante seja o *Streptococcus mutans*, a principal causa das cáries dentárias.

Enterococcus. Os enterococos são adaptados a áreas do corpo ricas em nutrientes, mas pobres em oxigênio, como o trato gastrintestinal, a vagina e a cavidade oral. Eles também são encontrados em grandes quantidades nas fezes humanas. Como são micro-organismos relativamente resistentes, eles persistem como contaminantes em ambientes hospitalares, mãos, jogos de cama e até nos gases fecais. Nos anos recentes, eles se tornaram a principal causa de infecções nosocomiais, especialmente por sua alta resistência à maioria dos antibióticos. Duas espécies, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, são responsáveis pela maioria das infecções de feridas cirúrgicas e do trato urinário. Em cenários médicos, eles frequentemente entram na corrente sanguínea por meio de procedimentos invasivos como os cateteres.

Listeria. A espécie patogênica do gênero *Listeria monocytogenes* pode contaminar alimentos, especialmente os laticínios. Uma característica importante da *L. monocytogenes* é que ela sobrevive em células fagocíticas, além de ser capaz de crescer em temperaturas de refrigeração. Se infecta uma mulher grávida, o organismo causa risco de parto natimorto ou danos graves para o feto.

Mycoplasmatales

Os micoplasmas são altamente pleomórficos, pois não têm parede celular (**Figura 11.20**) e podem produzir filamentos que parecem fungos, daí seu nome (*mykes* = fungos e *plasma* = formado). As

células do gênero *Mycoplasma* são bem pequenas, variando de 0,1 a 0,25 μm, com um volume celular que representa em torno de 5% do volume de um bacilo típico. Como seu tamanho e plasticidade permitem que passem através dos filtros que retêm bactérias comuns, os organismos foram inicialmente considerados como vírus. Os micoplasmas podem representar os menores organismos autorreplicáveis capazes de viver como células livres. Uma espécie tem somente 517 genes; o mínimo necessário sendo estimado entre 265 e 350. Estudos do seu DNA sugerem que eles são relacionados com o grupo bacteriano gram-positivo que inclui *Bacillus, Streptococcus* e *Lactobacillus,* mas teriam perdido gradualmente o seu material genético. O termo evolução degenerativa tem sido utilizado para descrever esse processo.

O patógeno humano mais significativo entre os micoplasmas é o *M. pneumoniae*, que é a causa de uma forma comum de pneumonia branda. Outros gêneros na ordem dos *Mycoplasmatales* são os *Spiroplasma*, células com uma morfologia similar a um saca-rolhas e que são fitopatógenos e parasitas comuns de insetos que se alimentam de plantas, e os *Ureoplasma*, assim denominados porque podem hidrolisar enzimaticamente a ureia na urina e estão ocasionalmente associados com infecções do trato urinário.

Os micoplasmas podem ser cultivados em meios artificiais que fornecem esteróis (se necessário) e outros requerimentos nutricionais ou físicos. As colônias têm menos de 1 mm de diâmetro e uma aparência característica de "ovo frito" quando vistas com aumento (veja a Figura 24.13, página 688). Para muitas finalidades, métodos de cultura de células frequentemente são mais satisfatórios. De fato, os micoplasmas crescem tão bem com esse método que são um problema frequente de contaminação em culturas celulares em laboratórios.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as bactérias gram-positivas de baixo índice de G + C descritas neste capítulo. **11-8**

Actinobacteria (bactérias gram-positivas com alto índice de G + C)

As bactérias gram-positivas de alto índice de G + C fazem parte do filo *Actinobacteria*. Muitas bactérias nesse filo são altamente pleomórficas na sua morfologia. Os gêneros *Corynebacterium* e *Gardnerella*, por exemplo, e vários outros gêneros, como o *Streptomyces,* crescem somente como filamentos extensos e, muitas vezes, ramificados. Diversos gêneros patogênicos importantes são encontrados no filo *Actinobacteria*, como as espécies de *Mycobacterium* que causam a tuberculose e a lepra. Os gêneros *Streptomyces, Frankia, Actinomycetes* e *Nocardia* frequentemente são chamados de modo informal de actinomicetos (do grego, *actino* = raio), pois têm uma forma de crescimento radial ou semelhante a estrela devido a seus filamentos ramificados. Em superfície, sua morfologia se assemelha a dos fungos filamentosos; contudo, os actinomicetos são procariotos, e seus filamentos têm um diâmetro bem inferior ao dos fungos eucarióticos. Alguns actinomicetes assemelham-se mais aos fungos, pois possuem esporos assexuados carregados externamente e que são utilizados para reprodução. As bactérias filamentosas, como os fungos filamentosos, são habitantes muito comuns do solo, onde o modo de crescimento filamentoso tem vantagens. Os organismos filamentosos podem criar pontes em espaços sem água entre as partículas de solo para se deslocar até novos sítios nutricionais. Essa morfologia permite também ao organismo uma maior relação superfície-volume, aumentando assim sua capacidade de absorver nutrientes no ambiente altamente competitivo do solo.

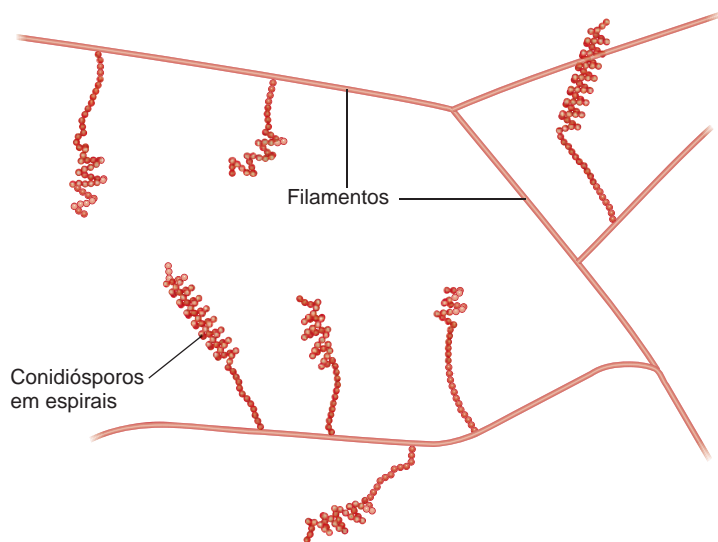
Mycobacterium. As micobactérias são bastonetes aeróbicos não formadores de esporos. O nome *myco*, significando parecido com fungos, deriva da presença ocasional de crescimento filamentoso (veja a Figura 24.8, página 682). Muitas das características das micobactérias, como a coloração ácido-álcool resistente, a resistência a drogas e a patogenicidade, são relacionadas com sua parede celular distinta, que é estruturalmente similar à das bactérias gram-negativas (veja a Figura 4.13c, página 86). Contudo, nas micobactérias a camada mais externa de lipopolissacarídeos é trocada pelos ácidos micólicos, que formam uma camada serosa e resistente à água. Isso torna as bactérias resistentes a estresses como o ressecamento. Além disso, algumas drogas antimicrobianas são capazes de entrar na célula (veja o quadro no Capítulo 7, página 201). Os nutrientes entram na célula muito lentamente através dessa membrana, o que contribui para a taxa lenta de crescimento das micobactérias; algumas vezes demora semanas até que as colônias se tornem visíveis. As micobactérias incluem os importantes patógenos *Mycobacterium tuberculosis*, que causa a tuberculose, e *M. leprae*, que causa a lepra. Outras espécies de micobactérias são encontradas no solo e na água e são patógenos ocasionais.

***Corynebacterium*.** As corinebactérias (*coryne* = forma de clava) tendem a ser pleomórficas e sua morfologia muitas vezes varia com a idade das células. A espécie mais conhecida é a *Corynebacterium diphtheriae*, o agente que causa a difteria.

***Propionibacterium*.** O nome desse gênero é derivado da capacidade do organismo de produzir ácido propiônico. Algumas espécies são importantes na fermentação de queijo suíço. *Propionibacterium acnes* é uma bactéria comumente encontrada na pele humana, sendo implicada como a principal causa da acne.

Gardnerella. *Gardnerella vaginalis* é uma bactéria que causa uma das formas mais comuns de vaginite. Sempre existiu certa dificuldade em definir a posição taxonômica dessa espécie, que é gram-variável e que exibe uma morfologia altamente pleomórfica.

Frankia. O gênero *Frankia* induz a formação de nódulos fixadores de nitrogênio nas raízes de amieiro, como *Rhizobium* forma nódulos nas raízes de leguminosas (veja a Figura 27.5, página 773).

Streptomyces. O gênero *Streptomyces* é o mais conhecido dos actinomicetos e uma das bactérias mais comumente isoladas do solo (**Figura 11.21**). Os esporos reprodutivos assexuados de *Streptomyces* são formados na ponta dos filamentos aéreos. Se cada esporo al-

(a) Desenho de um estreptomiceto típico mostrando o crescimento filamentoso e ramificado com conidiósporos assexuados reprodutivos na ponta dos filamentos.

(b) Espirais de conidiosporos sustentados pelos filamentos do estreptomiceto.

Figura 11.21 ***Streptomyces.***

P **Por que os *Streptomyces* não são classificados como fungos?**

Figura 11.22 ***Actinomyces.*** Observe a morfologia em filamentos ramificados.

P **Por que essas bactérias não são classificadas como fungos?**

cançar um substrato adequado, é capaz de germinar, produzindo assim uma nova colônia. Esses organismos são estritamente aeróbicos. Eles com frequência produzem enzimas extracelulares que permitem a utilização de proteínas, polissacarídeos (como o amido e a celulose) e muitos outros materiais orgânicos encontrados no solo. Os *Streptomyces* caracteristicamente produzem um composto gasoso chamado de *geosmina*, que confere ao solo úmido o odor típico de mofo. Espécies de *Streptomyces* são úteis porque produzem a maioria dos antibióticos comerciais (veja a Tabela 20.1, página 555). Isso levou a um estudo intensivo do gênero – existem cerca de 500 espécies descritas.

Actinomyces. O gênero *Actinomyces* consiste em anaeróbicos facultativos que são encontrados na boca e na garganta de humanos e de animais. Eles ocasionalmente formam filamentos que podem se fragmentar (**Figura 11.22**). A espécie *Actinomyces israelii* causa a actinomicose, uma doença que causa a destruição de tecidos, geralmente afetando a cabeça, o pescoço e os pulmões.

Nocardia. O gênero *Nocardia* assemelha-se morfologicamente aos *Actinomyces*; contudo, essas bactérias são aeróbicas. Para se reproduzirem, elas formam filamentos rudimentares que se fragmentam em bastonetes curtos. A estrutura de sua parede celular lembra a das micobactérias; portanto, elas frequentemente são ácido-álcool resistentes. Espécies de *Nocardia* são comuns no solo. Algumas espécies, como *Nocardia asteroides*, ocasionalmente causam uma infecção pulmonar crônica difícil de tratar. *N. asteroides* também é um dos agentes causadores do micetoma, uma infecção destrutiva localizada nos pés e nas mãos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar as bactérias gram-positivas de alto índice de G + C descritas neste capítulo. **11-9**

* * *

O quinto e último volume da segunda edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* está esquematizado para conter uma variedade de filos, como *Planctomycetes, Chlamydiae, Spirochaetes, Bacteroidetes* e *Fusobacteria*. Vários patógenos importantes, como os gêneros *Chlamydia, Borrelia* e *Treponema,* estão incluídos. Membros dos gêneros *Bacteroides* e *Fusobacterium* são habitantes numerosos e importantes do trato intestinal humano.

Figura 11.23 ***Gemmata obscuriglobus.*** Este planctomiceto exibe uma membrana dupla (envelope nuclear) circundando seu nucleoide (veja a Figura 4.6), que parece com um núcleo eucariótico.

P **Você pode ver uma similaridade entre a membrana dupla ao redor do nucleoide, nesta foto, e a membrana ao redor do envelope nuclear, mostrada na Figura 4.24?**

Planctomycetes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

11-10 Diferenciar *Planctomycetes, Chlamydia, Spirochaetes, Bacteroidetes, Cytophaga* e *Fusobacteria* pelo desenho de uma chave dicotômica.

Os planctomicetos, um grupo de bactérias gram-negativas capazes de brotamento, têm a reputação de "embaraçar a definição de bactéria". Embora seu DNA os coloque entre as bactérias, eles são semelhantes às arqueabactérias na constituição de suas paredes celulares, e alguns têm organelas que parecem com um núcleo de célula eucariótica. Os membros do gênero *Planctomyces* são bactérias aquáticas que produzem pedúnculos parecidos com os das caulobactérias e têm paredes celulares similares às das arquibactérias, ou seja, sem peptideoglicana. Uma espécie de planctomicetos, *Gemmata obscuriglobus,* tem uma membrana interna dupla ao redor de seu DNA, semelhante a um núcleo eucariótico (**Figura 11.23**). Os biólogos questionam se isso não faria das *Gemmata* um modelo para a origem do núcleo eucariótico.

Chlamydiae

Os membros do filo *Chlamydiae* são agrupados com bactérias similares geneticamente e que não contêm peptideoglicana nas paredes celulares. Discutiremos somente os gêneros *Chlamydia* e *Chlamydophila*. Edições anteriores do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* agrupavam essas bactérias com as riquétsias, que também crescem intracelularmente nas células hospedeiras. As riquétsias são agora classificadas de acordo com seu conteúdo genético com as alfa-proteobactérias.

Chlamydia* e *Chlamydophila. *Chlamydia* e *Chlamydophila*, que chamaremos de clamídias, têm um ciclo único de desenvolvimento que talvez seja sua característica mais diferenciada (**Figura 11.24a**). Elas são bactérias gram-negativas cocoides (**Figura 11.24b**). O **corpo elementar** mostrado na Figura 11.24 é o agente infeccioso. Diferentemente das riquétsias, as clamídias não requerem insetos ou carrapatos para transmissão. Elas são transmitidas para o homem por contato interpessoal ou por vias respiratórias de origem aérea. As clamídias podem ser cultivadas em animais de laboratório, culturas de células ou na gema de ovos embrionários de galinha.

Existem três espécies de clamídias que são patógenos significativos para o homem. *Chlamydia trachomatis* é o patógeno mais conhecido desse grupo, sendo responsável por mais de uma doença importante. Isso inclui o tracoma, uma das causas mais comuns de cegueira em seres humanos nos países menos desenvolvidos. Ela também é considerada o principal agente causador da uretrite não gonocócica, que pode ser a doença sexualmente transmissível mais comum nos Estados Unidos, e do linfogranuloma venéreo, outra doença sexualmente transmissível.

Dois membros do gênero *Chlamydophila* são patógenos bem conhecidos. *Chlamydophila psittaci* é o agente causador da doença respiratória psitacose. *Chlamydophila pneumoniae* é a causa de uma forma branda de pneumonia especialmente prevalente em adultos jovens.

Spirochaetes

As espiroquetas têm uma morfologia espiralada, como um parafuso metálico, algumas mais compactadas que as outras. Contudo, a característica mais distinta dessa ordem é seu método de motilidade, que faz uso de um ou mais **filamentos axiais** (ou *endoflagelos*), encerrados no espaço entre a bainha externa e o corpo da célula. Uma extremidade de cada filamento é fixada perto de um dos polos celulares (veja a Figura 4.10, página 84, e **Figura 11.25**). Por rotação de seu filamento axial, a célula gira na direção oposta, como um saca-rolhas que é muito eficiente para movimentar o organismo em líquido. Para uma bactéria, isso é mais difícil do que pode parecer. Para o tamanho bacteriano, a água é tão viscosa quanto o melado para humanos. Contudo, tipicamente uma bactéria pode se mover cerca de 100 vezes o comprimento de seu corpo em um segundo (ou aproximadamente 50 μm/seg), enquanto um peixe grande, como o atum, pode se mover somente cerca de 10 vezes o comprimento de seu corpo nesse mesmo tempo.

Muitas espiroquetas são encontradas na cavidade oral humana e provavelmente estão entre os primeiros micro-organismos descritos por Leeuwenhoek no século XVII, encontrados em saliva e raspados de dente. Um local incomum para as espiroquetas é a superfície de alguns protozoários que digerem celulose encontrados em cupins, onde podem funcionar como substitutos para os flagelos. Veja o quadro na página 107.

Treponema. As espiroquetas incluem um número importante de bactérias patogênicas. A mais conhecida é do gênero *Treponema*, que inclui o *Treponema pallidum*, responsável pela sífilis (**Figura 11.25b**).

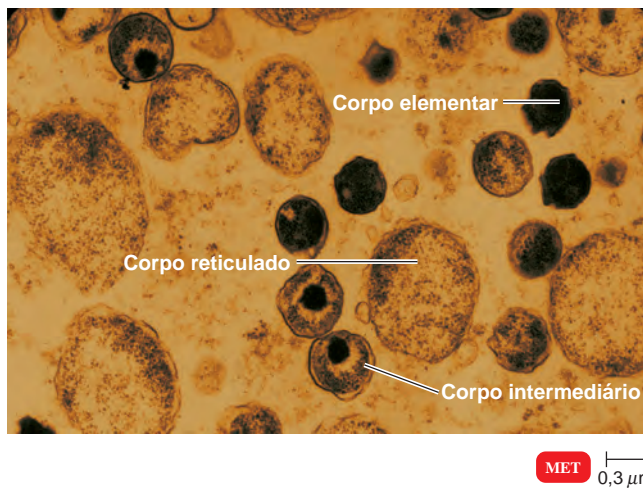
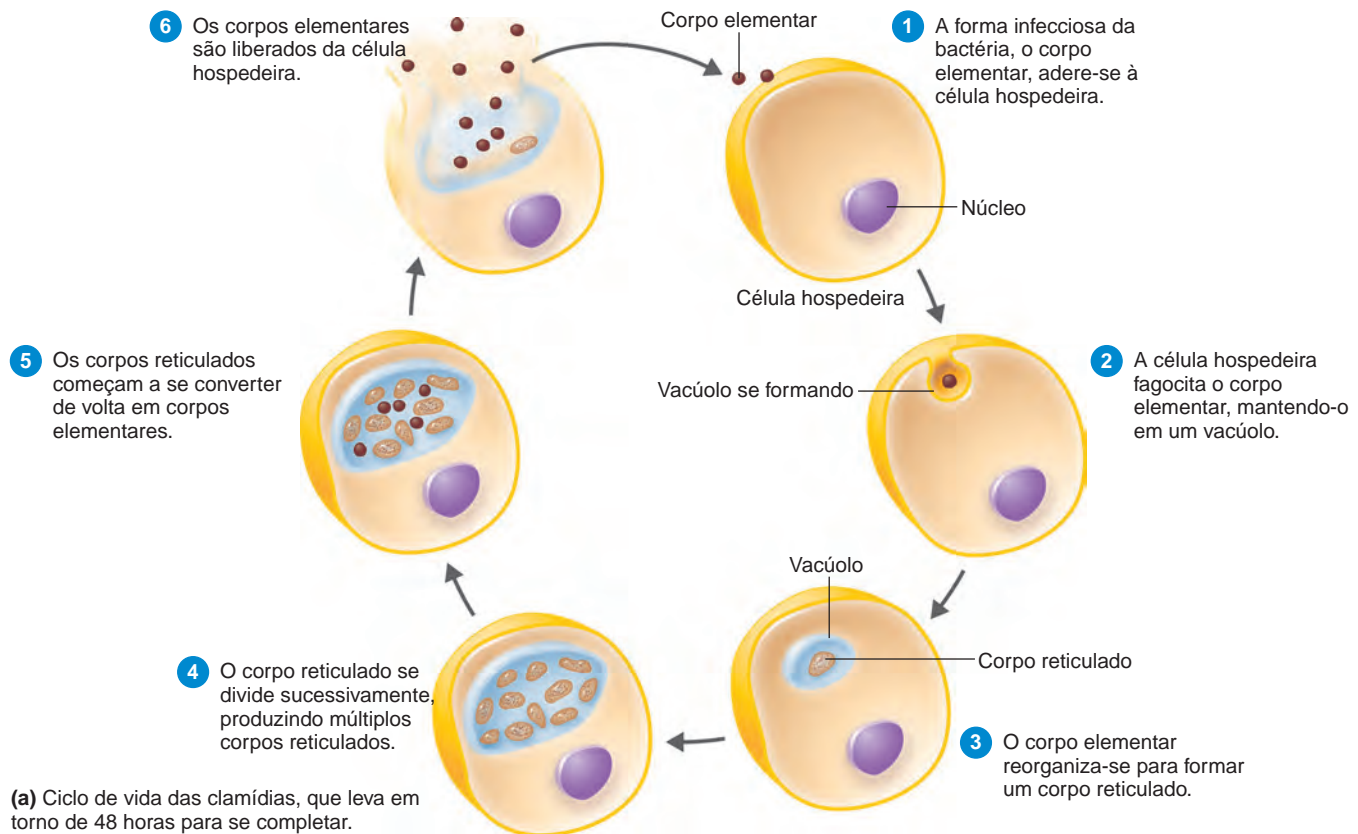
(a) Ciclo de vida das clamídias, que leva em torno de 48 horas para se completar.

(b) Micrografia de *Chlamydia psittaci* no citoplasma da célula hospedeira. Os **corpos elementares** são o estágio infeccioso; eles são densos, pretos e relativamente pequenos. Os **corpos reticulados**, a forma com que as clamídias se reproduzem dentro da célula, são maiores e com aparência manchada. Os **corpos intermediários**, um estágio entre os dois anteriores, tem um centro preto.

Figura 11.24 Clamídias.

P Qual estágio do seu ciclo de vida das clamídias é infeccioso para os humanos?

Borrelia. Os membros do gênero *Borrelia* causam a febre recorrente e a doença de Lyme, doenças graves que são transmitidas por carrapatos ou piolhos.

Leptospira. A leptospirose é uma doença geralmente disseminada entre humanos pela água contaminada por espécies de *Leptospira*. As bactérias são excretadas na urina de animais como cachorros, ratos, e porcos; dessa forma, cachorros e gatos domésti-

(a) Este corte transversal de uma espiroqueta mostra inúmeros filamentos axiais entre a célula preta e a bainha externa.

(b) Essa micrografia de uma porção de *Treponema pallidum* mostra a bainha, que se retraiu da célula, e dois filamentos axiais aderidos próximos a uma extremidade celular sob a bainha.

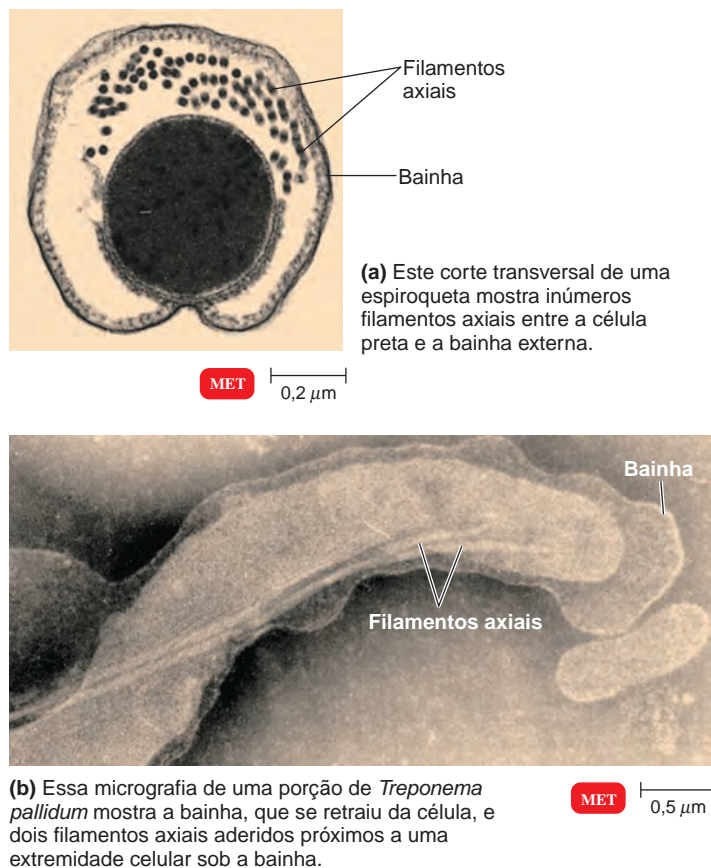



Figura 11.25 **Espiroquetas.** As espiroquetas são helicoidais e têm filamentos axiais sob uma bainha externa, que permite que elas se movimentem com uma rotação parecida com a de um saca-rolhas.

P Como a motilidade das espiroquetas se diferencia daquela de *Spirillum* (veja a Figura 11.4)?

cos são rotineiramente imunizados contra a leptospirose. As células de *Leptospira* fortemente espiraladas são mostradas na Figura 26.4, na página 747.

Bacteroidetes

O filo *Bacteroidetes* inclui diversos gêneros de bactérias anaeróbicas. Entre eles, estão o gênero *Bacteroides,* um habitante comum do trato intestinal humano, e o gênero *Prevotella*, encontrado na boca humana. Também incluídas no filo *Bacteroidetes* estão importantes bactérias do solo com motilidade por deslizamento do gênero *Cytophaga*.

Bacteroides. As bactérias do gênero *Bacteroides* vivem no trato intestinal humano em números próximos a um bilhão por grama de fezes. Algumas espécies de *Bacteroides* também residem em habitats anaeróbicos, como a fenda gengival (veja a Figura 25.2, página 707), e frequentemente são recuperadas de infecções teciduais profundas. Os *Bacteroides* são organismos imóveis e que não formam endosporos. As infecções causadas por *Bacteroides* muitas vezes resultam de feridas de perfurações ou cirurgias e são uma causa frequente de peritonite, uma inflamação proveniente de intestino perfurado.

Cytophaga. Os membros do gênero *Cytophaga* são importantes na degradação de celulose e quitina, que são abundantes no solo. A motilidade por deslizamento coloca o micro-organismo em contato íntimo com esses substratos, permitindo uma maior eficiência para a ação enzimática.

Fusobacteria

As bactérias fusiformes constituem outro filo de anaeróbicos. Essas bactérias frequentemente são pleomórficas, mas, como o seu nome sugere, podem ter a forma de fuso.

Fusobacterium. Os membros do gênero *Fusobacterium* são compridos e delgados, com as extremidades afiladas, em vez de arredondadas (**Figura 11.26**). Em humanos, frequentemente são encontrados na fenda gengival e podem ser responsáveis por alguns abscessos dentários.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Faça uma chave dicotômica para diferenciar *Planctomycetes, Chlamydia, Spirochetes, Bacteroidetes, Cytophaga* e *Fusobacterium*. **11-10**

MEV 1 µm

Figura 11.26 ***Fusobacterium.*** Esse é um bastonete anaeróbico comum, encontrado no intestino humano. Observe as extremidades afiladas características.

P Em qual outra parte do corpo humano o *Fusobacterium* frequentemente pode ser encontrado?

DOMÍNIO *ARCHAEA*

No final da década de 1970, um tipo distinto de célula procariótica foi descoberto. O mais impressionante é que suas paredes celulares não continham peptideoglicana. Logo se tornou claro que elas também compartilhavam muitas sequências de rRNA, e essas sequências eram diferentes daquelas do Domínio *Bacteria* e dos organismos eucarióticos. Essas diferenças eram tão significativas que esses organismos constituem agora um novo grupo taxonômico, o Domínio *Archaea*.

Diversidade entre as *Archaea*

OBJETIVO DO APRENDIZADO

11-11 Nomear um habitat para os grupos de arquibactérias.

Esse grupo excepcionalmente interessante de procariotos é muito diverso. A maioria apresenta morfologia convencional, ou seja, bastonetes, cocos e espiralados, mas alguns têm uma morfologia bastante incomum, como ilustrado na **Figura 11.27**. Alguns são gram-positivos, outros gram-negativos; alguns podem se dividir por fissão binária, outros por fragmentação ou brotamento; alguns não possuem parede celular. Os membros cultiváveis das *Archaea* (singular = *Archeon*) podem ser colocados em cinco grupos fisiológicos ou nutricionais.

Fisiologicamente, as arquibactérias são encontradas em condições ambientais extremas. Os **extremofílicos**, como são conhecidos, incluem halófilos, termófilos e acidófilos (veja também as páginas 158 e 159). Não existem arquibactérias patogênicas conhecidas. Os halófilos sobrevivem em concentrações de sal superiores a 25%, como encontrado no Great Salt Lake e açudes evaporando ao sol. Exemplos são encontrados no gênero *Halobacterium*, alguns deles podendo até requerer tais concentrações de sal para seu crescimento. As temperaturas ótimas de crescimento das arquibactérias termófilas extremas é de 80°C ou mais. O recorde atual de temperatura alta de crescimento é de 121°C, estabelecido por arquibactérias crescendo próximo a fontes hidrotermais, a 2.000 metros nas profundezas no oceano. Arquibactérias acidófilas podem ser encontradas crescendo em valores de pH abaixo de zero e frequentemente em temperaturas elevadas também. Um exemplo é o gênero *Sulfolobus*, cujo pH ótimo é de cerca de 2 e a temperatura ótima é maior que 70°C.

Nutricionalmente, o oceano contém inúmeras arquibactérias nitrificantes que oxidam amônia para obter energia. Algumas também podem ser encontradas no solo. Os metanógenos são arquibactérias anaeróbicas estritas que produzem metano como produto final por combinação do hidrogênio (H_2) com o dióxido de carbono (CO_2). Não são conhecidos metanógenos no Domínio *Bacteria*. Essas arquibactérias são de considerável importância econômica quando são utilizadas em tratamentos de esgoto (veja a discussão sobre digestão de lodo no Capítulo 27, páginas 785 a 787). Os metanógenos também fazem parte da microbiota do colo humano, da vagina e da boca.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que tipo de arquibactéria poderia habitar açudes evaporando ao sol? **11-11**

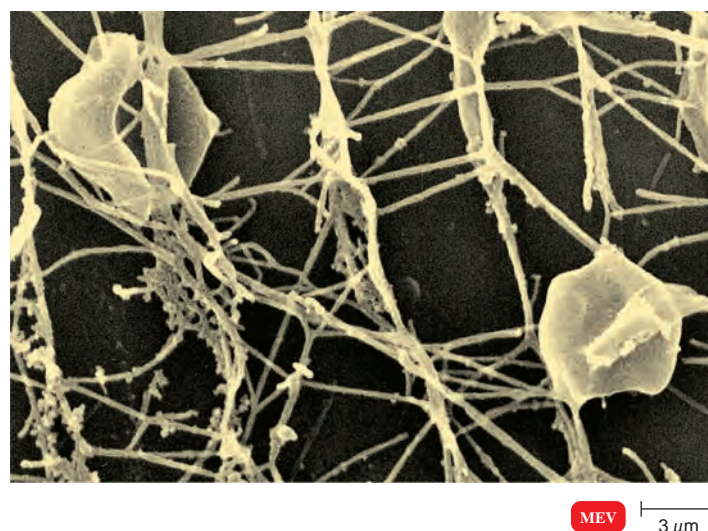



Figura 11.27 ***Archaea.*** *Pyrodictium abyssi* é um membro incomum das arquibactérias encontrado crescendo em sedimentos nas profundezas do oceano em uma temperatura de 110°C. As células são em forma de disco com uma rede de túbulos (cânulas). A maioria das arquibactérias é bastante convencional em sua morfologia.

P **Os termos incluídos no nome, *pyro* e *abyssi*, sugerem uma base para a denominação desta bactéria?**

DIVERSIDADE MICROBIANA

A Terra fornece um número infinito de nichos ambientais, e novas formas de vida têm evoluído para preenchê-los. Muitos dos micro-organismos que existem nesses nichos não podem ser cultivados por métodos convencionais em meios de crescimento clássicos e por isso são desconhecidos. Nos últimos anos, contudo, métodos de isolamento e identificação mais sofisticados estão sendo desenvolvidos, e os micro-organismos que preenchem os nichos estão sendo identificados – muitos sem ser cultivados. De particular interesse são as bactérias que contradizem os limites teóricos de tamanho dos procariotos.

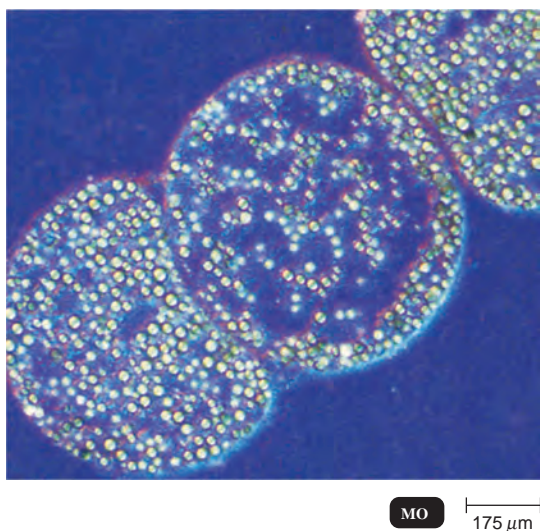



Figura 11.28 ***Thiomargarita namibiensis.*** A *Thiomargarita namibiensis* extrai sua energia de compostos reduzidos do enxofre, como o sulfeto de hidrogênio.

P Uma bactéria desse tamanho seria teoricamente possível se o seu interior fosse de citoplasma em vez de um vacúolo preenchido com fluido?

Descobertas que ilustram a extensão da diversidade

OBJETIVO DO APRENDIZADO

11-12 Listar dois fatores que contribuem para o limite de nosso conhecimento sobre a diversidade microbiana.

No início deste capítulo, descrevemos a bactéria gigante *Epulopiscium*. Em 1999, outra bactéria gigante foi descoberta em sedimentos de 100 metros de profundidade, nas águas costeiras da Namíbia, na costa Sudeste da África. Denominado *Thiomargarita namibiensis,* significando "pérola sulfúrica da Namíbia", esse organismo esférico, classificado com as gama-proteobactérias, tem um diâmetro de 750 μm (**Figura 11.28**). Essa medida é um pouco maior que um ponto no final desta frase.

P&R Como mencionamos, um fator que limita o tamanho das células procarióticas é o fato de os nutrientes terem que entrar no citoplasma por difusão simples. *T. namibiensis* minimiza esse problema por se parecer com um balão cheio de fluido, o vacúolo no interior sendo cercado por uma camada externa relativamente fina. Esse citoplasma é igual em volume ao da maioria dos procariotos. Sua fonte de energia é essencialmente o sulfeto de hidrogênio, que é abundante nos sedimentos onde o organismo normalmente é encontrado, e o nitrato, que deve ser extraído intermitentemente das águas do mar ricas em nitrato, quando tempestades agitam os sedimentos soltos. O vacúolo interno da célula, que representa em torno de 98% do volume da bactéria, serve como espaço de armazenamento para o nitrato entre os reabastecimentos do estoque. A energia celular é derivada da oxidação do sulfeto de hidrogênio; o nitrato, embora seja uma fonte de nitrogênio nutricional, serve principalmente com o aceptor de elétrons na ausência de oxigênio.

A descoberta dessas bactérias gigantes levantou a seguinte questão: até que tamanho uma célula procariótica pode chegar e ainda absorver nutrientes por difusão? No outro extremo, existem relatos de bactérias muito pequenas, medindo entre 0,02 e 0,03 μm (**nanobactérias**), encontradas em formações rochosas profundas. A maioria dos microbiologistas acredita que elas sejam artefatos inanimados e sugere o nome de **nanons**. Considerações teóricas foram utilizadas para calcular que, para ter um metabolismo significativo, uma célula deveria ter um diâmetro de pelo menos 0,1 μm. Certas bactérias têm um genoma muito pequeno. Por exemplo, *Carsonella ruddii* é uma bactéria que vive em relação simbiótica com um inseto hospedeiro, um psilídio suga-seiva (piolho de planta), e requer uma capacidade genética menor que o necessário a um micro-organismo de vida livre. Ela possui apenas 182 genes, o que é próximo dos 151 genes calculados teoricamente como o mínimo necessário, mesmo para um micro-organismo vivendo em simbiose. (Compare com os requerimentos genéticos mínimos para os micoplasmas de vida livre, na página 320.) *C. ruddii* não é completamente parasita em suas relações com o inseto, mas fornece ao hospedeiro alguns aminoácidos essenciais. Ele é, em um processo evolutivo de transformação em uma organela, como as mitocôndrias das células de mamíferos (veja a página 277).

Até o momento, os microbiologistas descreveram em torno de 5.000 espécies bacterianas, das quais cerca de 3.000 são listadas no *Bergey's Manual*. O número real pode ser de milhões. Muitas bactérias no solo ou na água, ou de outro lugar na natureza, não podem ser cultivadas com os meios e as condições normalmente utilizados para o crescimento bacteriano. Além disso, algumas bactérias são parte de cadeias alimentares complexas e somente podem crescer na presença de outros micro-organismos que fornecem os requerimentos nutricionais específicos. Recentemente, pesquisadores utilizaram a reação em cadeia da polimerase (PCR) para fazer milhões de cópias de genes encontrados ao acaso em amostras de solo. Por comparação dos genes encontrados em várias repetições desse processo, os pesquisadores podem estimar as diferentes espécies bacterianas nas amostras. Uma pesquisa indica que uma única grama de solo pode conter 10.000 ou mais tipos bacterianos – cerca de duas vezes mais do que tem sido descrito.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como você pode detectar a presença de uma bactéria que não pode ser cultivada? **11-12**

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 299)

1. O *Bergey's Manual* classifica as bactérias em taxa com base nas sequências de rRNA.
2. O *Bergey's Manual* lista características de identificação, como coloração de Gram, morfologia celular, requerimentos de oxigênio e propriedades nutricionais.

Grupos procarióticos (p. 300)

1. Os organismos procarióticos são classificados em dois domínios: *Archaea* e *Bacteria*.

DOMÍNIO *BACTERIA* (p. 302-324)

1. As bactérias são essenciais para a vida na Terra.

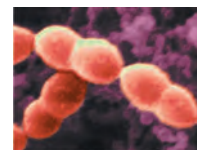
Proteobactérias (p. 302-312)

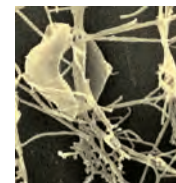
1. Os membros do filo *Proteobacteria* são gram-negativos.
2. As *alfa-proteobacterias* incluem bactérias fixadoras de nitrogênio, quimioautotróficas e quimio-heterotróficas.
3. As *beta-proteobacterias* incluem quimioautotróficas e quimio-heterotróficas.
4. *Pseudomonales, Legionellales, Vibrionales, Enterobacteriales* e *Pasteurellales* são classificadas como *gama-proteobacterias*.
5. Bactérias fotossintéticas púrpuras e verdes são fotoautotróficas que utilizam energia luminosa e CO_2 e não produzem O_2.
6. *Myxococcus* e *Bdellovibrio* são delta-proteobactérias e predadoras de outras bactérias.
7. As *epsilon-proteobacterias* incluem *Campylobacter* e *Helicobacter*.

Bactérias gram-negativas não proteobactérias (p. 313-315)

1. Vários filos de bactérias gram-negativas não são relacionados com as proteobactérias.
2. As cianobactérias são autotróficas que utilizam a energia luminosa e do CO_2 e produzem O_2.
3. Exemplos de quimio-heterotróficos são *Planctomycetes, Chlamydia, Spirochaetes, Bacteroidetes* e *Fusobacterium*.

Bactérias gram-positivas (p. 315-324)

1. No *Bergey's Manual*, as bactérias gram-positivas são divididas naquelas que possuem um índice de G + C baixo e aquelas que possuem um índice de G + C alto.
2. As bactérias com índice de G + C baixo incluem bactérias comuns do solo, bactérias do ácido lático e diversos patógenos humanos.
3. Bactérias com índice de G + C elevado incluem *Mycobacterium, Corynebacterium* e *Actinomycetes*.

DOMÍNIO *ARCHAEA* (p. 325)

1. Os halófilos extremos, termófilos extremos e metanógenos estão incluídos entre as arquibactérias.

DIVERSIDADE MICROBIANA (p. 325, 326)

1. Poucos micro-organismos do número total dos diferentes procariotos foram isolados e identificados.
2. A PCR pode ser utilizada para revelar a presença de bactérias que não podem ser cultivadas no laboratório.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

Os itens a seguir podem ser utilizados para identificar bactérias importantes. Preencha o espaço fornecido com um gênero representativo.

Nome do gênero representativo

I. Gram-positivas
- **A.** Bastonete formador de esporos
  - **1.** Anaeróbico obrigatório **(a)**______________
  - **2.** Anaeróbico não obrigatório **(b)**______________
- **B.** Não formador de esporos
  - **1.** Células e bastonetes
    - **a.** Produzem conidiósporos **(c)**______________
    - **b.** Ácido-álcool resistentes **(d)**______________
  - **2.** Células e cocos
    - **a.** Não possuem sistema de citocromos **(e)**______________
    - **b.** Utilizam a respiração aeróbica **(f)**______________

II. Gram-negativas
- **A.** Células são helicoidais ou curvas
  - **1.** Presença de filamento axial **(g)**______________
  - **2.** Ausência de filamento axial **(h)**______________
- **B.** Células são bastonetes
  - **1.** Aeróbicos, não fermentadores **(i)**______________
  - **2.** Anaeróbicos facultativos **(j)**______________

III. Não possuem paredes celulares **(k)**______________

IV. Parasitas intracelulares obrigatórios
- **A.** Transmitidos por carrapatos **(l)**______________
- **B.** Corpos reticulados nas células hospedeiras (m)______________

2. Compare e diferencie cada um dos seguintes pares:
   a. Cianobactérias e algas
   b. Actinomicetos e fungos
   c. *Bacillus* e *Lactobacillus*
   d. *Pseudomonas* e *Escherichia*
   e. *Leptospira* e *Spirillum*
   f. *Escherichia* e *Bacteroides*
   g. *Rickettsia* e *Chlamydia*
   h. *Ureaplasma* e *Mycoplasma*
3. **DESENHE** Desenhe uma chave para diferenciar as seguintes bactérias:

   Cianobactérias, *Cytophaga, Desulfovibrio, Frankia, Hyphomicrobium*, metanógenos, mixobactérias, *Nitrobacter*, bactérias púrpuras, *Sphaerotilus* e *Sulfolobus*.

Múltipla escolha

1. Se você usasse a coloração de Gram nas bactérias que vivem no intestino humano, você esperaria encontrar principalmente:
   a. Cocos gram-positivos.
   b. Bastonetes gram-negativos.
   c. Bastonetes gram-positivos formadores de endosporos.
   d. Bactérias gram-negativas fixadoras de nitrogênio.
   e. Todas as alternativas.
2. Qual das seguintes alternativas *não* deve estar com as demais?
   a. *Enterobacteriales.* d. *Pasteurellales.*
   b. *Lactobacillales.* e. *Vibrionales.*
   c. *Legionellales.*
3. As bactérias patogênicas podem ser:
   a. Móveis. d. Anaeróbicas.
   b. Bastonetes. e. Todas as alternativas.
   c. Cocos.
4. Qual das seguintes alternativas é um parasita intracelular?
   a. *Rickettsia.* d. *Staphylococcus.*
   b. *Mycobacterium.* e. *Streptococcus.*
   c. *Bacillus.*
5. Qual dos seguintes termos é o mais específico?
   a. Bacilos. d. Bastonetes.
   b. *Bacillus* e cocos formadores de endosporos.
   c. Gram-positivos. e. Anaeróbicos.
6. Qual das seguintes alternativas *não* deve estar com as demais?
   a. *Enterococcus.* d. *Streptococcus.*
   b. *Lactobacillus.* e. Todos estão agrupados juntos.
   c. *Staphylococcus.*
7. Qual dos seguintes pares está errado?
   a. Bastonetes gram-positivos anaeróbicos formadores de endosporos – *Clostridium.*
   b. Bastonetes gram-negativos anaeróbicos facultativos – *Escherichia.*
   c. Bastonetes gram-negativos anaeróbicos facultativos – *Shigella.*
   d. Bastonetes gram-positivos pleomórficos – *Corynebacterium.*
   e. Espiroquetas – *Helicobacter.*
8. *Spirillum* não é classificado como espiroqueta porque as espiroquetas:
   a. Não causam doenças.
   b. Possuem filamentos axiais.
   c. Possuem flagelos.
   d. São procariotos.
   e. Nenhuma das alternativas.
9. Logo após sua descoberta, a *Legionella* foi classificada como pseudomônada porque:
   a. É patogênica.
   b. É um bastonete aeróbico gram-negativo.
   c. É difícil de cultivar.
   d. É encontrada na água.
   e. Nenhuma das alternativas.
10. As cianobactérias diferem das bactérias fototróficas púrpuras e verdes porque:
   a. Produzem oxigênio durante a fotossíntese.
   b. Não necessitam de luz.
   c. Utilizam H_2S como doador de elétrons.
   d. Têm um núcleo envolvido em uma membrana.
   e. Todas as alternativas.

Pensamento crítico

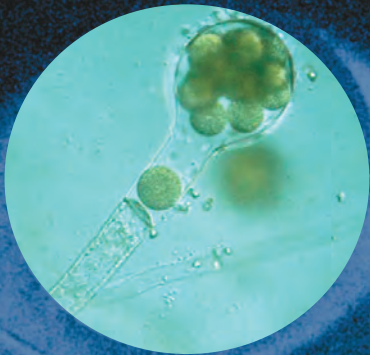
1. Coloque cada filo listado na Tabela 11.1 na categoria apropriada:
   a. Parede celular tipicamente gram-positiva
   b. Parede celular tipicamente gram-negativa
   c. Ausência de peptideoglicana na parede celular
   d. Ausência de parede celular
2. Com qual das seguintes alternativas a bactéria *Chromatium* está mais intimamente relacionada? Explique a razão em poucas palavras.
   a. Cianobactérias
   b. *Chloroflexus*
   c. *Escherichia*
3. Identifique o gênero que melhor se enquadra nas seguintes descrições:
   a. Este organismo pode produzir um combustível utilizado para aquecimento doméstico e geração de eletricidade.
   b. Este gênero gram-positivo representa a maior fonte de danos bacterianos para a indústria da apicultura.
   c. Este bastonete gram-positivo é utilizado nas fermentações de laticínios.
   d. Este gênero de gama-proteobactéria é bem adaptado para degradar hidrocarbonetos em um derramamento de óleo.

Aplicações clínicas

1. Após contato com o fluido espinal de um paciente, um técnico de laboratório apresentou febre, náuseas e lesões púrpuras no pescoço e nas extremidades do corpo. Uma cultura do material da garganta mostrou o crescimento de diplococos gram-negativos. Qual é o gênero dessa bactéria?
2. Entre 1º de abril e 15 de maio de um determinado ano, 22 crianças em três estados apresentaram diarreia, febre e vômitos. Cada criança havia ganhado filhotes de patos como animais de estimação. Bactérias gram-negativas anaeróbicas facultativas foram isoladas das fezes dos pacientes e dos patos; as bactérias foram identificadas como sorovar C2. Qual o gênero dessas bactérias?
3. Uma mulher se queixando de dores abdominais inferiores e com 39°C de febre deu à luz logo depois uma criança natimorta. As hemoculturas da criança revelaram bastonetes gram-positivos. A mulher tinha o hábito de se alimentar com salsichas mal aquecidas durante sua gestação. Qual micro-organismo pode estar envolvido?

12 Eucariotos: Fungos, Algas, Protozoários e Helmintos

Mais da metade da população mundial está infectada por patógenos eucariotos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica seis doenças parasitárias entre as 20 principais causas de morte de origem microbiana no mundo. A cada ano, há mais de cinco milhões de casos de malária, esquistossomose, amebíase, ancilostomose, tripanossomíase africana e parasitoses intestinais descritos nos países em desenvolvimento. Patógenos eucariotos surgidos recentemente em países desenvolvidos incluem *Pneumocystis*, a principal causa de morte em pacientes com Aids; o protozoário *Cryptosporidium*, que causou doença em 400 mil pessoas no estado norte-americano de Milwaukee em 1993; um novo protozoário parasita, *Cyclospora*, descoberto nos Estados Unidos em 1993; e novos casos ou aumento de envenenamento por algas. O aumento das doenças relacionadas com fungos levou a um debate sobre a aprovação de leis considerando os níveis seguros de exposição a esses micro-organismos.

Neste capítulo, examinamos os micro-organismos eucarióticos que afetam humanos: os fungos, as algas, os protozoários, os helmintos parasitas e os artrópodos que transmitem doenças. (Para uma comparação de suas características, veja a Tabela 12.1.)

SOB O MICROSCÓPIO

Saprolegnia ferax. Uma alga, também chamada de fungo aquático, causa doenças em plantas e animais.

P&R

Durante a Grande Fome Irlandesa na metade do século XIX, mais de um milhão de pessoas morreram ou ficaram desabrigadas devido aos efeitos devastadores de *Phytophthora infestans*, uma alga que infecta culturas de batatas. Atualmente, quais outros danos esta alga vem causando em outras partes do mundo?

Procure pela resposta neste capítulo.

Tabela 12.1 Principais diferenças entre os micro-organismos eucariotos: fungos, algas, protozoários e helmintos

	Fungos	Algas	Protozoários	Helmintos
Reino	Fungi	"Protista"	"Protista"	Animalia
Tipo nutricional	Quimio-heterotrófico	Fotoautotrófico	Quimio-heterotrófico	Quimio-heterotrófico
Multicelularidade	Todos, exceto leveduras	Alguns	Nenhum	Todos
Organização celular	Unicelular, filamentosa, carnuda (como cogumelos)	Unicelular, colonial, filamentosa; tecidos	Unicelular	Tecidos e órgãos
Método nutricional	Absorção	Difusão	Absorção; ingestão (citostoma)	Ingestão (boca); absorção
Características típicas	Esporos sexuais e assexuais	Pigmentos	Motilidade; alguns formam cistos	Muitos possuem ciclos de vida elaborados, incluindo ovos, larvas e adultos
Formação de embriões	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Todos

Fungos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

12-1 Listar as características que definem os fungos.

12-2 Diferenciar reprodução assexuada de sexuada, e descrever cada um desses processos nos fungos.

12-3 Listar as características que definem os três filos dos fungos descritos neste capítulo.

12-4 Identificar dois efeitos benéficos e dois prejudiciais dos fungos.

Ao longo dos últimos dez anos, a incidência de infecções importantes causadas por fungos tem aumentado. Elas estão ocorrendo como infecções hospitalares e em indivíduos com sistema imune comprometido. Além disso, milhares de doenças causadas por fungos afetam plantas economicamente importantes, custando mais de um bilhão de dólares ao ano.

Os fungos também são benéficos, sendo importantes na cadeia alimentar por decomporem matéria vegetal morta, reciclando elementos vitais. Pelo uso de enzimas extracelulares como as celulases, os fungos são os principais decompositores de partes duras das plantas, que não podem ser digeridas pelos animais. Quase todas as plantas dependem de simbioses com fungos, conhecidas como **micorrizas**, que auxiliam as raízes das plantas a absorverem minerais e água do solo (veja o Capítulo 27). Os fungos também são valiosos para os animais. Algumas formigas cultivam fungos para quebrar a celulose e a lignina presentes nas plantas, provendo glicose, que as formigas podem então digerir. Os fungos são utilizados pelos homens como alimentos (cogumelos) e também para a produção de alimentos (pão e ácido cítrico) e drogas (álcool e penicilina). Das mais de 100 mil espécies conhecidas de fungos, apenas cerca de 200 são patogênicas aos humanos e aos animais.

O estudo dos fungos é chamado de **micologia**. Examinaremos, primeiramente, as estruturas que são a base da identificação dos fungos em laboratórios clínicos; em seguida, exploraremos seus ciclos de vida. Recordando o Capítulo 10, a identificação de um patógeno é necessária para o tratamento adequado da doença e para prevenir sua disseminação.

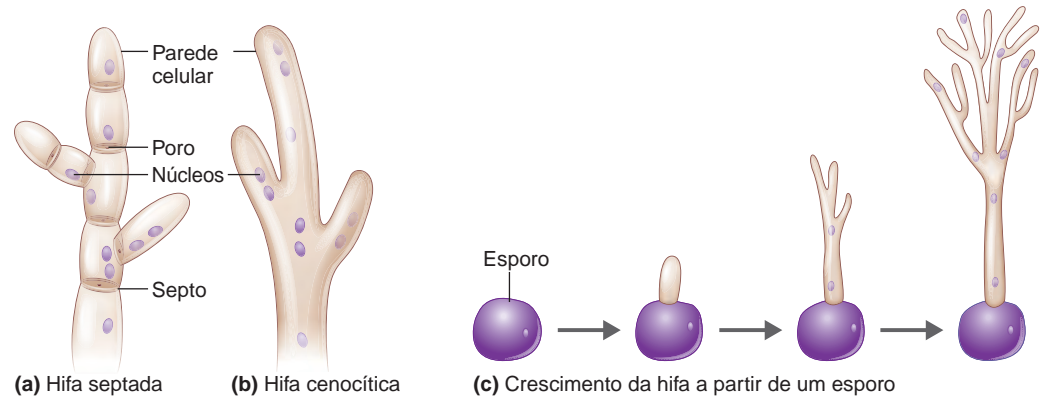
Também examinaremos suas necessidades nutricionais. Todos os fungos são quimio-heterotróficos, necessitando de componentes orgânicos como fontes de energia e carbono. Os fungos são aeróbicos ou anaeróbicos facultativos; somente alguns fungos anaeróbicos são conhecidos.

A **Tabela 12.2** lista as diferenças básicas entre fungos e bactérias.

Tabela 12.2 Comparação entre fungos e bactérias

	Fungos	Bactérias
Tipo de célula	Eucariótica	Procariótica
Membrana celular	Esteróis presentes	Esteróis ausentes, com exceção do *Mycoplasma*
Parede celular	Glicanas; mananas; quitina (sem peptideoglicana)	Peptideoglicana
Esporos	Esporos reprodutivos sexuais e assexuais	Endosporos (não para reprodução); alguns esporos assexuais reprodutivos
Metabolismo	Limitado a heterotrófico; aeróbico, anaeróbico facultativo	Heterotrófico, autotrófico, fotoautotrófico; aeróbico, anaeróbico facultativo, anaeróbico

Figura 12.1 Características das hifas dos fungos. **(a)** Hifa septada com parede cruzada, ou septos, dividindo as hifas em unidades tipo célula. **(b)** A hifa cenocítica não contém septos. **(c)** Crescimento das hifas por alongamento das extremidades.

P O que é uma hifa? E um micélio?

Características dos fungos

A identificação das leveduras, assim como a identificação das bactérias, envolve testes bioquímicos. Entretanto, fungos multicelulares são identificados considerando seu aspecto, incluindo características da colônia e dos esporos reprodutivos.

Estruturas vegetativas

As colônias dos fungos são descritas como estruturas **vegetativas** porque são compostas de células envolvidas no catabolismo e no crescimento.

Fungos filamentosos e fungos carnosos. O **talo** (corpo) de um fungo filamentoso ou de um fungo carnoso consiste em filamentos longos de células conectadas; esses filamentos são denominados **hifas**, que podem crescer até imensas proporções. As hifas de um único fungo em Oregon, nos Estados Unidos, se estendem por 5,6 quilômetros.

Na maioria dos fungos filamentosos, as hifas contêm paredes cruzadas denominadas **septos**, que dividem as hifas em distintas unidades celulares uninucleadas (um único núcleo). Essas hifas são chamadas de **hifas septadas** (**Figura 12.1a**). Em algumas poucas classes de fungos, as hifas não contêm septos e se apresentam como células longas e contínuas com muitos núcleos. Elas são chamadas de **hifas cenocíticas** (**Figura 12.1b**). Mesmo nos fungos com hifas septadas, geralmente há aberturas nos septos que fazem com que o citoplasma de "células" adjacentes seja contíguo; esses fungos também são, na verdade, organismos cenocíticos.

As hifas crescem por alongamento das extremidades (**Figura 12.1c**). Cada parte de uma hifa é capaz de crescer, e quando um fragmento é quebrado, ele pode se alongar para formar uma nova hifa. Em laboratório, os fungos geralmente crescem a partir de fragmentos obtidos de um talo do fungo.

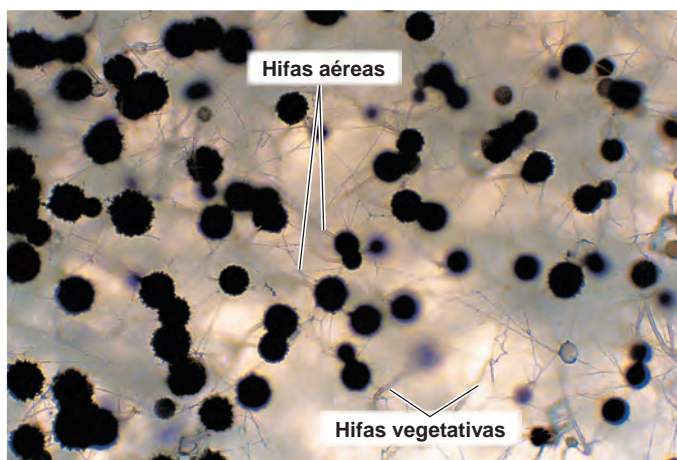
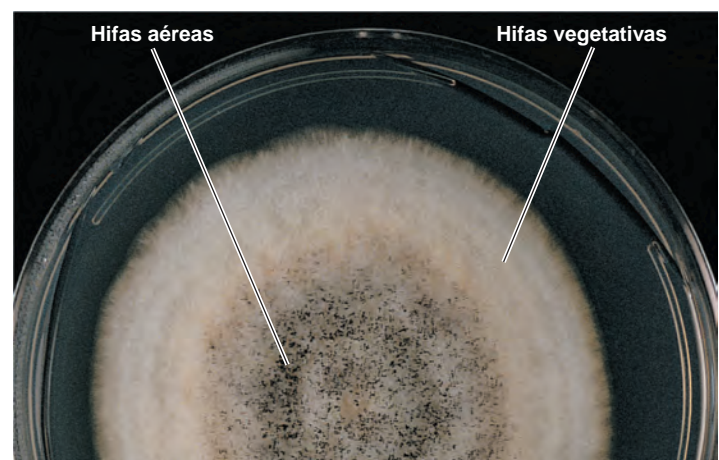
A porção de uma hifa que obtém nutriente é chamada de *hifa vegetativa;* a porção envolvida com a reprodução é a *hifa reprodutiva* ou *aérea,* assim chamada porque se projeta acima da superfície sobre a qual o fungo está crescendo. As hifas aéreas frequentemente sustentam os esporos reprodutivos (**Figura 12.2a**), discutidos adiante. Quando as condições ambientais são favoráveis, as hifas crescem

(a) *Aspergillus niger* MO 20 μm

(b) *A. niger* em ágar

Figura 12.2 Hifas aéreas e vegetativas. **(a)** Uma fotomicrografia de hifas aéreas, mostrando os esporos reprodutivos. **(b)** Uma colônia de *Aspergillus niger* crescido em uma placa de ágar glicose, mostrando as hifas vegetativas e aéreas.

P De que maneira as colônias de fungos diferem das colônias de bactérias?

Figura 12.3 Levedura de brotamento. Micrografia de *Saccharomyces cerevisiae* em diversos estágios do brotamento.

P Qual a diferença entre um broto e um esporo?

Figura 12.4 Dimorfismo em fungos. O dimorfismo no fungo *Mucor indicus* depende da concentração de $C0_2$. Na superfície do ágar, *Mucor* apresenta um crescimento leveduriforme, porém no interior do meio o crescimento é filamentoso.

P O que é dimorfismo nos fungos?

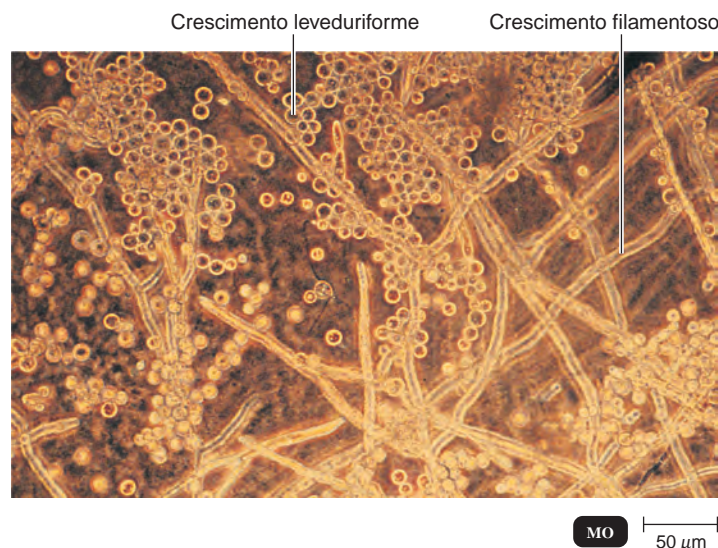
formando uma massa filamentosa chamada de **micélio**, que é visível a olho nu (**Figura 12.2b**).

Leveduras. As leveduras são fungos unicelulares, não filamentosos, tipicamente esféricos ou ovais. Da mesma forma que os fungos filamentosos, as leveduras são amplamente distribuídas na natureza: com frequência são encontradas como um pó branco cobrindo frutas e folhas. As **leveduras de brotamento**, como as *Saccharomyces*, dividem-se formando células desiguais.

No brotamento (**Figura 12.3**), a célula parental forma uma protuberância (broto) na sua superfície externa. À medida que o broto se alonga, o núcleo da célula parental se divide, e um dos núcleos migra para o broto. O material da parede celular é então sintetizado entre o broto e a célula parental, e o broto acaba se separando.

Uma célula de levedura pode produzir mais de 24 células-filhas por brotamento. Algumas leveduras produzem brotos que não se separam uns dos outros; esses brotos formam uma pequena cadeia de células denominada **pseudo-hifa**. *Candida albicans* se fixa a células epiteliais humanas na forma de levedura, mas normalmente necessita estar na forma de pseudo-hifas para invadir os tecidos mais profundos (veja a Figura 21.17a, página 601).

As **leveduras de fissão**, como *Schizosaccharomyces,* dividem-se produzindo duas novas células iguais. Durante a fissão binária, as células parentais se alongam, seus núcleos se dividem, e duas células-filhas são produzidas. O aumento do número de células de leveduras em meio sólido produz uma colônia similar às colônias de bactérias.

As leveduras são capazes de crescimento anaeróbico facultativo, podendo utilizar oxigênio ou um composto orgânico como aceptor final de elétrons; esse é um atributo valioso porque permite que esses fungos sobrevivam em vários ambientes. Se houver acesso ao oxigênio, as leveduras respiram aerobicamente para metabolizar hidratos de carbono formando dióxido de carbono e água; na ausência de oxigênio, elas fermentam os hidratos de carbono e produzem etanol e dióxido de carbono. Essa fermentação é usada na fabricação de cerveja e vinho e nos processos de panificação. Espécies de *Saccharomyces* produzem etanol nas bebidas fermentadas e dióxido de carbono para fermentar a massa do pão.

Fungos Dimórficos. Alguns fungos, mais notadamente as espécies patogênicas, exibem **dimorfismo** – duas formas de crescimento. Tais fungos podem crescer tanto na forma de fungos filamentosos quanto na forma de levedura. A forma de fungo filamentoso produz hifas aéreas e vegetativas; a forma de levedura se reproduz por brotamento. O dimorfismo nos fungos patogênicos é dependente de temperatura: a 37°C, o fungo apresenta forma de levedura; a 25°C, de fungo filamentoso (veja a Figura 24.16, página 695). Contudo, o aparecimento de dimorfismo no fungo mostrado na **Figura 12.4** (nesse exemplo, não patogênico) muda com a concentração de CO_2.

Ciclo de vida

Fungos filamentosos podem reproduzir-se assexuadamente pela fragmentação de suas hifas. Além disso, tanto a reprodução sexuada quanto a assexuada em fungos ocorrem pela formação de **esporos**. Na realidade, os fungos normalmente são identificados pelo tipo de esporo.

Os esporos de fungos, entretanto, são completamente diferentes dos endosporos de bactérias. Os endosporos bacterianos permitem que as células sobrevivam a condições ambientais adversas (veja o Capítulo 4). Uma única célula bacteriana vegetativa forma um endosporo, que eventualmente germina para produzir uma única célula bacteriana. Esse processo não é reprodução, uma vez que o número total de células não aumenta. Entretanto, após um fungo filamentoso formar um esporo, o mesmo se separa da célula parental e germina, originando um novo fungo filamentoso (veja a Figura 12.1c). Ao contrário dos endosporos de bactérias, esse processo é uma verdadeira reprodução por meio de esporos, pois um segundo organismo cresce a partir do esporo. Embora os esporos de fungos possam sobreviver por períodos extensos em ambientes

secos ou quentes, a maioria não exibe a mesma tolerância extrema e longevidade apresentadas pelos endosporos bacterianos.

Os esporos são formados a partir das hifas aéreas de diferentes maneiras, dependendo da espécie. Os esporos de fungos podem ser assexuais ou sexuais. Os **esporos assexuais** são formados pelas hifas de um organismo. Quando esses esporos germinam, tornam-se organismos geneticamente idênticos ao parental. Os **esporos sexuais** resultam da fusão de núcleos de duas linhagens opostas de cruzamento de uma mesma espécie do fungo. Os fungos produzem esporos sexuais com menos frequência que os esporos assexuais. Os organismos que crescem a partir de esporos sexuais apresentarão características de ambas as linhagens parentais. Como os esporos são de considerável importância na identificação dos fungos, examinaremos a seguir alguns dos vários tipos de esporos assexuais e sexuais.

Esporos assexuais. Os esporos assexuais são produzidos pelos fungos por mitose e subsequente divisão celular; não há fusão de núcleos de células. Dois tipos de esporos assexuais são produzidos pelos fungos. Um deles é o **conidiósporo** ou **conídio**, um esporo unicelular ou multicelular que não é armazenado em uma bolsa (**Figura 12.5a**). Os conídios são produzidos em cadeias na extremidade do **conidióforo**. Tais esporos são produzidos por *Aspergillus*. Os conídios formados pela fragmentação de uma hifa septada em células únicas, levemente espessas, são denominados **artroconídios** (**Figura 12.5b**). Uma espécie que produz esses esporos é o *Coccidioides immitis* (veja a Figura 24.18, página 696). Outro tipo de conídio, o **blastoconídio**, consiste em um broto originado de uma célula parental (**Figura 12.5c**). Esses esporos são encontrados em algumas leveduras, como *Candida albicans* e *Cryptococcus*. Um **clamidoconídio** é um esporo com paredes espessas, formado pelo arredondamento e alargamento no interior de um segmento de hifa (**Figura 12.5d**). Um fungo que produz clamidoconídios é a levedura *C. albicans*.

Outro tipo de esporo assexual é o **esporangiósporo**, formado no interior de um **esporângio**, ou bolsa, na extremidade de uma hifa aérea denominada **esporangióforo**. O esporângio pode conter centenas de esporangiósporos (**Figura 12.5e**). Esses esporos são produzidos por *Rhizopus*.

Esporos sexuais. Um esporo sexual fúngico resulta da reprodução sexuada, consistindo de três etapas:

1. **Plasmogamia.** Um núcleo haploide de uma célula doadora (+) penetra no citoplasma da célula receptora (–).
2. **Cariogamia.** Os núcleos (+) e (–) se fundem para formar um núcleo zigoto diploide.
3. **Meiose.** O núcleo diploide origina um núcleo haploide, esporos sexuais, dos quais alguns podem ser recombinantes genéticos.

Os esporos sexuais produzidos pelos fungos caracterizam os filos. Em laboratório, a maioria dos fungos apresenta apenas esporos assexuais. Consequentemente, a identificação clínica é baseada no exame microscópico dos esporos assexuais.

Adaptações nutricionais

Os fungos geralmente são adaptados a ambientes que poderiam ser hostis a bactérias. Os fungos são quimio-heterotróficos e, assim como as bactérias, absorvem nutrientes em vez de ingerí-los, como fazem os animais. Todavia, os fungos diferem das bactérias em determinadas necessidades ambientais e nas características nutricionais apresentadas a seguir:

- Os fungos normalmente crescem melhor em ambientes em que o pH é próximo a 5, que é muito ácido para o crescimento da maioria das bactérias comuns.
- Quase todos os fungos são aeróbicos. A maioria das leveduras é anaeróbica facultativa.
- A maioria dos fungos é mais resistente à pressão osmótica que as bactérias; muitos, consequentemente, podem crescer em concentrações relativamente altas de açúcar ou sal.
- Os fungos podem crescer em substâncias com baixo grau de umidade, em geral tão baixo que impede o crescimento de bactérias.
- Os fungos necessitam de menos nitrogênio para um crescimento equivalente ao das bactérias.
- Os fungos com frequência são capazes de metabolizar carboidratos complexos, como a lignina (um dos componentes da madeira), que a maioria das bactérias não pode utilizar como nutriente.

Essas características permitem que os fungos se desenvolvam em substratos diversos como paredes de banheiro, couro de sapatos e jornais velhos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Considere que você isolou um organismo unicelular que possui parede celular. Como você verificaria que se trata de um fungo e não de uma bactéria? **12-1**

✓ Compare o mecanismo de formação de um conidiósporo e de um ascósporo. **12-2**

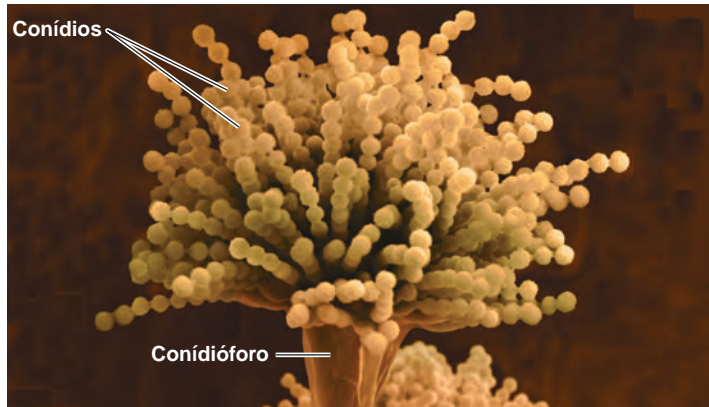
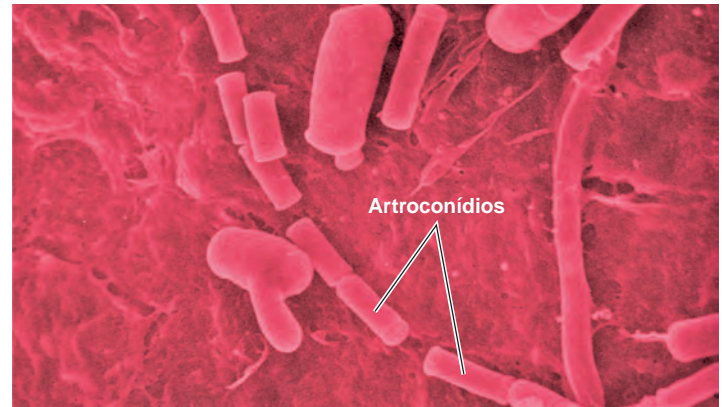
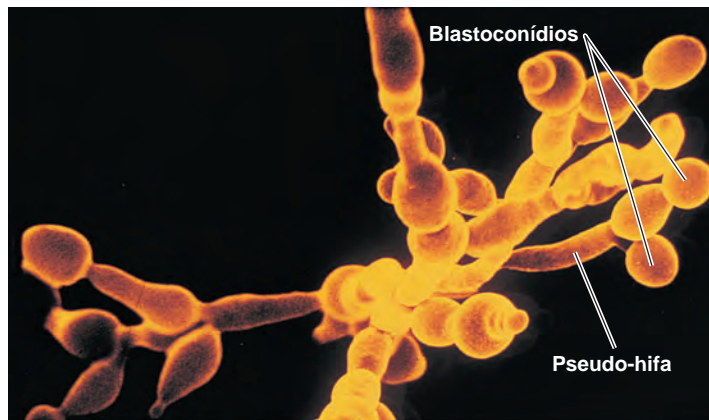
Filos de fungos de importância médica

Esta seção apresenta uma revisão dos filos dos fungos de importância médica. As doenças que eles causam serão estudadas nos Capítulos 21 a 26. Observe que nem todos os fungos são causadores de doenças.

Os gêneros listados nos filos a seguir incluem muitos que são encontrados como contaminantes de alimentos e de culturas bacterianas em laboratórios. Embora estes gêneros não representem todos os principais fungos de importância médica, eles são exemplos característicos de seus respectivos grupos.

Zigomiceto

Os zigomicetos, ou fungos de conjugação, são fungos filamentosos saprofíticos que apresentam hifas cenocíticas. Um exemplo é o *Rhizopus stolonifer*, o conhecido mofo preto do pão. Os esporos assexuais do *Rhizopus* são esporangiósporos (**Figura 12.6**, parte inferior, à direita). Os esporangiósporos pretos dentro do esporângio conferem ao *Rhizopus* seu nome comum. Quando o esporângio se abre, os esporangiósporos se dispersam. Se eles caírem em um meio adequado, irão germinar, originando um novo talo de fungo.

Os esporos sexuais são zigósporos. Um **zigósporo** é um esporo grande no interior de uma parede espessa (Figura 12.6, parte infe-

(a) Conídios estão organizados em cadeias na extremidade de um conidióforo em *Aspergillus flavus*. MEV 5 μm

(b) A fragmentação da hifa resulta na formação de artroconídios em *Coccidioides immitis*. MEV 5 μm

(c) Os blastoconídios são formados a partir de brotos de uma célula parental de *Candida albicans*. MEV 10 μm

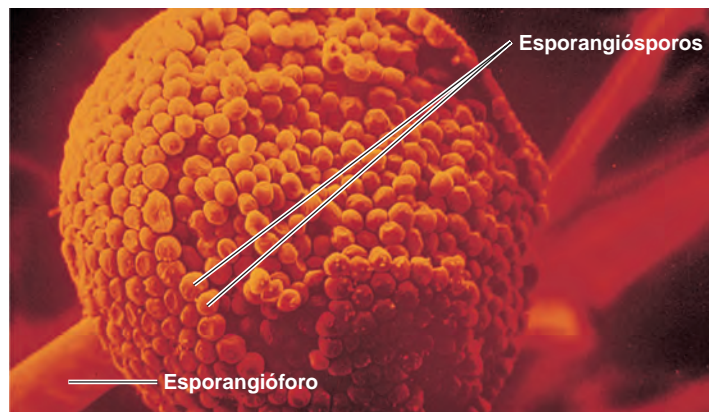
(d) Os clamidoconídios são células com paredes espessas no interior das hifas de *C. albicans*. MEV 10 μm

(e) Os esporangiósporos são formados dentro do esporângio (bolsa de esporos) em *Rhizopus*. MEV 10 μm

Figura 12.5 **Esporos assexuais característicos.**

P **O que são as estruturas representadas por um pó verde sobre um alimento mofado?**

rior, à esquerda). Esse tipo de esporo resulta da fusão de núcleos de duas células que são morfologicamente similares.

Ascomiceto

Os ascomicetos, ou "fungos de saco", incluem fungos com hifas septadas e algumas leveduras. Seus esporos assexuais normalmente são conídios produzidos em longas cadeias a partir do conidióforo. O termo *conídio* significa pó, e esses esporos são facilmente liberados da cadeia formada no conidióforo ao menor contato e flutuam no ar como poeira.

Um **ascósporo** se origina da fusão do núcleo de duas células que podem ser morfologicamente similares ou diferentes. Esses es-

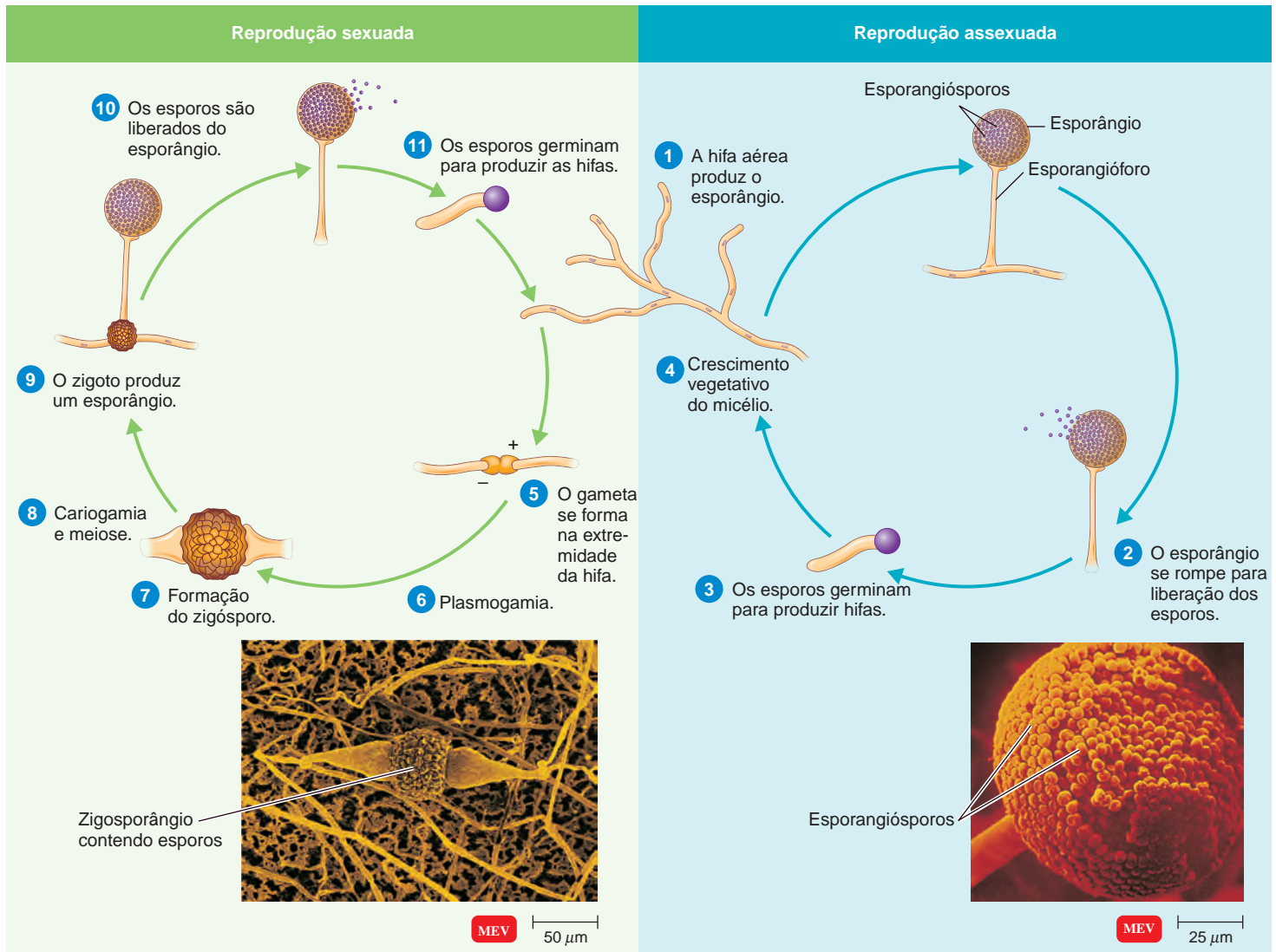



Figura 12.6 Ciclo de vida de *Rhizopus*, um zigomiceto. Este fungo, na maioria das vezes, reproduz-se assexuadamente. Duas linhagens opostas de cruzamento (designadas + e –) são necessárias para a reprodução sexuada.

P O que é uma micose oportunista?

poros são produzidos em uma estrutura em forma de saco conhecida como **asco** (Figura 12.7, parte superior, à esquerda). Os membros deste filo são chamados de "fungos de saco" por causa dos ascos.

Basidiomiceto

Os basidiomicetos também possuem hifas septadas. Esse filo inclui fungos que produzem cogumelos. Os **basidiósporos** são formados externamente em um pedestal conhecido como **basídio** (Figura 12.8). (O nome comum do fungo é derivado da forma de clava do basídio.) Existem normalmente quatro basidiósporos por basídio. Alguns dos basidiomicetos produzem conidiósporos assexuais.

Os fungos que apresentamos até agora são **teleomorfos**, isto é, eles produzem esporos sexuais e assexuais. Alguns ascomicetos perderam a capacidade de se reproduzir sexuadamente. Esses fungos assexuais são chamados de **anamorfos**. *Penicillium* é um exemplo de um anamorfo que surgiu da mutação em um teleomorfo. Historicamente, os fungos cujo ciclo sexual ainda não havia sido observado eram colocados em uma "categoria de espera" denominada *Deuteromiceto*. Atualmente, os micologistas estão usando o sequenciamento de rRNA para classificar esses organismos. Muitos dos que foram previamente classificados como deuteromicetos são fases anamórficas dos ascomicetos, e alguns são basidiomicetos.

A Tabela 12.3 na página 338 lista alguns fungos que causam doenças em humanos. Dois nomes genéricos são dados para alguns fungos, porque fungos de importância médica que são conhecidos por seu estágio anamórfico ou assexuado frequentemente são citados por esse nome.

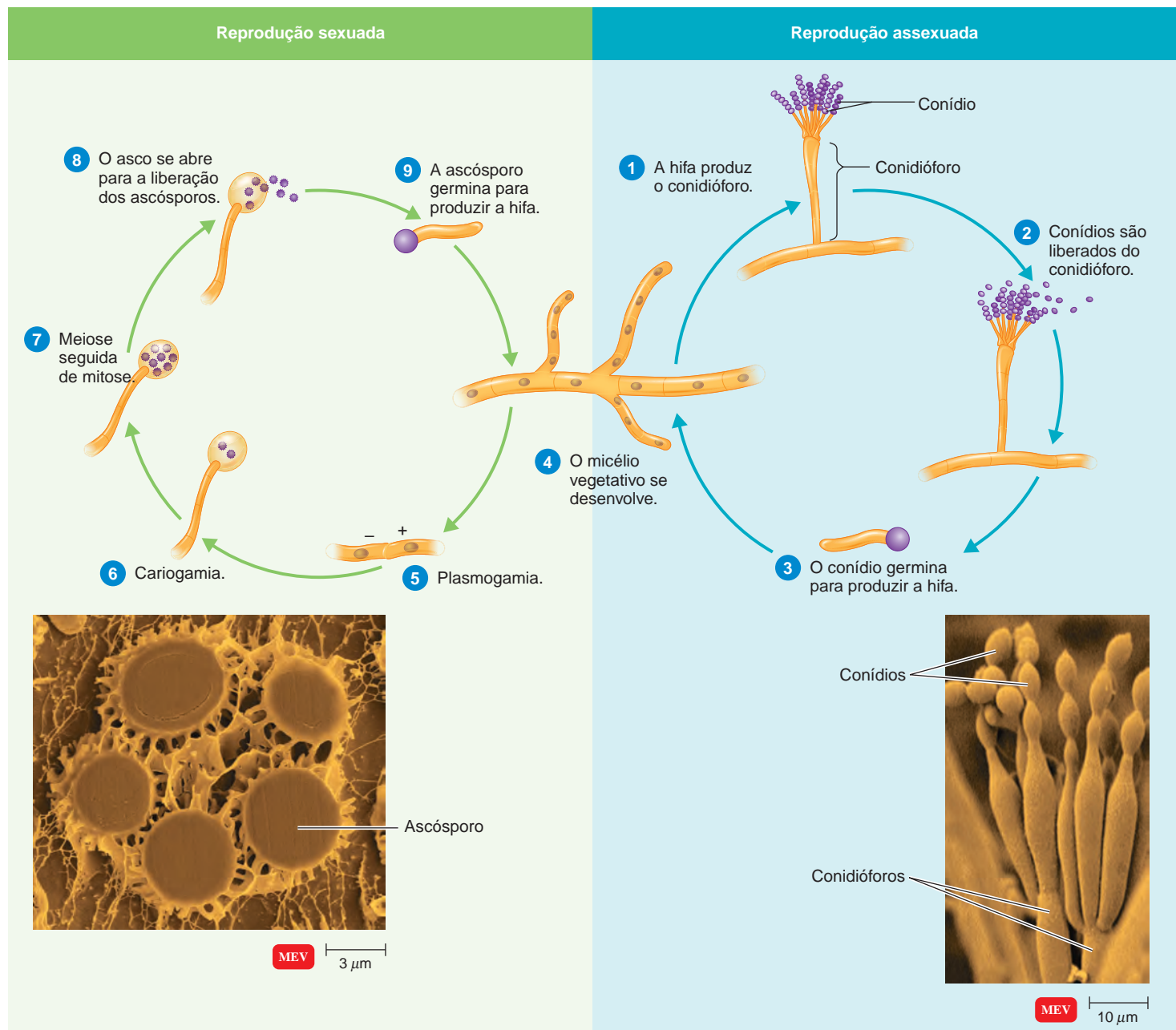



Figura 12.7 **Ciclo de vida do *Talaromyces,* um ascomiceto.** Ocasionalmente, quando duas células de cruzamento opostas de duas linhagens diferentes (+ e –) fundem-se, a reprodução sexuada ocorre.

P Dê o nome de um ascomiceto que pode infectar o homem.

Doenças causadas por fungos

Qualquer infecção de origem fúngica é chamada de **micose**. As micoses geralmente são infecções crônicas (de longa duração) porque os fungos crescem lentamente. As micoses são classificadas em cinco grupos de acordo com o grau de envolvimento no tecido e o modo de entrada no hospedeiro: sistêmica, subcutânea, cutânea, superficial ou oportunista. No Capítulo 10, observamos que os fungos estão relacionados aos animais. Consequentemente, as drogas que afetam as células fúngicas também podem afetar as células animais. Esse fato torna difícil o tratamento das infecções fúngicas em humanos e em outros animais.

Micoses sistêmicas são infecções fúngicas profundas no interior do corpo. Não são restritas a nenhuma região particular, mas podem afetar vários tecidos e órgãos. As micoses sistêmicas normalmente são causadas por fungos que vivem no solo. A inalação dos esporos é a rota da transmissão; essas infecções em geral se ini-

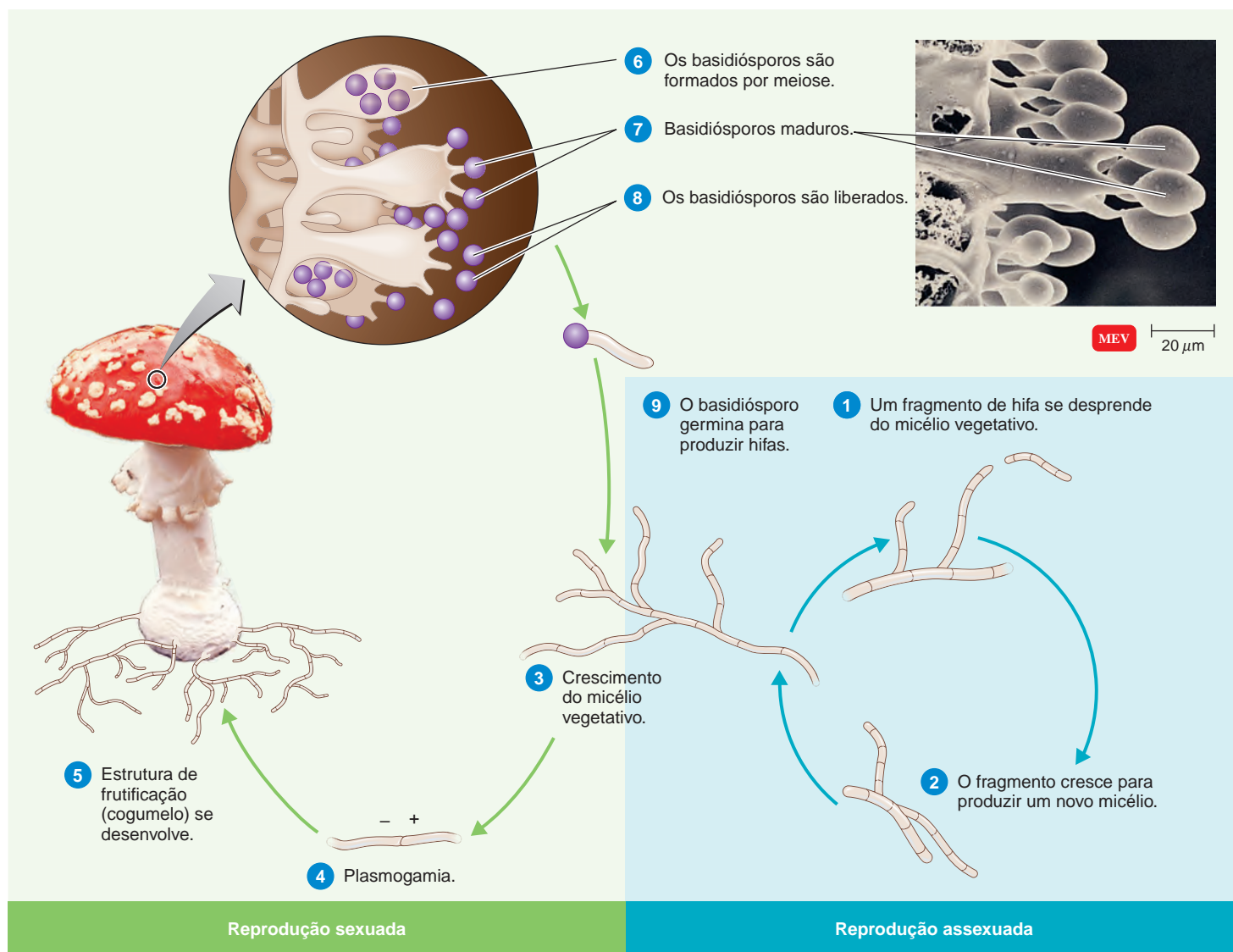



Figura 12.8 **Ciclo de vida genérico de um basidiomiceto.** Os cogumelos surgem após fusão de células originadas de duas linhagens de cruzamento opostas (+ e –).

P **Qual a base da classificação dos fungos em filos?**

ciam nos pulmões e se difundem para outros tecidos do corpo. Elas não são contagiosas entre animais e humanos ou entre indivíduos. Duas micoses sistêmicas, histoplasmose e coccidioidomicose, serão discutidas no Capítulo 24.

Micoses subcutâneas são infecções fúngicas localizadas abaixo da pele causadas por fungos saprofíticos que vivem no solo e na vegetação. A esporotricose é uma infecção subcutânea adquirida por jardineiros e fazendeiros (Capítulo 21, página 601). A infecção ocorre por implantação direta dos esporos ou de fragmentos de micélio em uma perfuração na pele.

Os fungos que infectam apenas a epiderme, o cabelo e as unhas são chamados de **dermatófitos**, e suas infecções são chamadas de *dermatomicoses* ou **micoses cutâneas** (veja a Figura 21.16, página 600). Os dermatófitos secretam queratinase, uma enzima que degrada a **queratina**, uma proteína encontrada no cabelo, na pele e nas unhas. A infecção é transmitida entre humanos ou entre animal e humanos por contato direto ou contato com fios e células epidérmicas infectadas (como tesoura de cabeleireiro ou pisos de banheiros).

Os fungos que causam as **micoses superficiais** estão localizados ao longo dos fios de cabelos e em células epidérmicas superficiais. Essas infecções são prevalentes em climas tropicais.

Um **patógeno oportunista** geralmente é inofensivo em seu habitat normal, mas pode se tornar patogênico em um hospedeiro que se encontra debilitado ou traumatizado; indivíduos sob tratamento com antibióticos de amplo espectro; indivíduos cujo sistema imune esteja suprimido por drogas ou por distúrbios, ou aqueles que tenham alguma doença pulmonar.

Pneumocystis é um patógeno oportunista encontrado em indivíduos com o sistema imune comprometido e é a infecção

Tabela 12.3 Características de alguns fungos patogênicos

Filo	Características de crescimento	Tipos de esporos assexuais	Patógenos humanos	Habitat	Tipo de micose	Observações clínicas	Referência da página
Zigomiceto	Hifa não septada	Esporangiósporos	*Rhizopus*	Ubíquo	Sistêmica	Patógeno oportunista	697
			Mucor	Ubíquo	Sistêmica	Patógeno oportunista	698
Ascomiceto	Dimórfico	Conídios	*Aspergillus*	Ubíquo	Sistêmica	Patógeno oportunista	697
			Blastomyces dermatitidis (Ajellomyces†)*	Desconhecido	Sistêmica	Inalação	697
			Histoplasma capsulatum (Ajellomyces†)*	Solo	Sistêmica	Inalação	695
	Hifa septada, grande afinidade por queratina	Conídios	*Microsporum*	Solo, animais	Cutânea	*Tinea capitis* (tinha de cabeça)	600
		Artroconídios	*Trichophyton* (Arthroderma†)*	Solo, animais	Cutânea	*Tinea pedis* (pé-de-atleta)	600
Anamórficos	Hifa septada	Conídios	*Epidermophyton*	Solo, animais	Cutânea	*Tinea cruris* (tinha crural) *Tinea unguium* (tinha de unhas)	600
	Dimórfico		*Sporothrix schenckii, Stachybotrys*	Solo	Subcutânea	Ferimento por perfuração	601
		Artroconídios	*Coccidioides immitis*	Solo	Sistêmica	Inalação	696
	Leveduriforme, pseudo-hifa	Clamidoconídios	*Candida albicans*	Microbiota normal humana	Cutânea, sistêmica, mucocutânea	Patógeno oportunista	601
	Unicelular	Nenhum	*Pneumocystis*	Ubíquo	Sistêmica	Patógeno oportunista	697
Basidiomiceto	Hifa septada; inclui as ferrugens e os patógenos de plantas; células leveduriformes encapsuladas	Conídios	*Cryptococcus neoformans* (Filobasidiella†)*	Solo, fezes de aves	Sistêmica	Inalação	626
			Malassezia	Pele humana	Cutânea	Caspa, dermatite	586

* Nome do anamorfo.
† Nome do teleomorfo.

mais frequente em pacientes com Aids, podendo ser fatal (veja a Figura 24.20, página 698). Foi primeiramente classificado como protozoário, mas estudos recentes de seu RNA indicaram que se trata de um fungo unicelular anamorfo. Outro exemplo de patógeno oportunista é o fungo *Stachybotrys,* que normalmente cresce na celulose encontrada em plantas mortas, mas que recentemente foi encontrado nas paredes de casas prejudicadas pela umidade.

A mucormicose é uma micose oportunista causada por *Rhyzopus* e *Mucor;* a infecção ocorre principalmente em pacientes com diabetes melito, leucemia, ou sob tratamento com drogas imunossupressoras. A aspergilose também é uma micose oportunista causada por *Aspergillus* (veja a Figura 12.2). Essa doença ocorre em indivíduos que estão debilitados devido a doenças nos pulmões ou ao câncer e que tenham inalado esporos de *Aspergillus*.

Infecções oportunistas causadas por *Cryptococcus* e *Penicillium* podem ser fatais para pacientes com Aids. Esses fungos oportunistas podem ser transmitidos de um indivíduo para outro que não esteja infectado, mas geralmente não infectam indivíduos imuno-

competentes. As **infecções por leveduras**, ou candidíases, frequentemente são causadas por *Candida albicans* e podem ocorrer como candidíase vulvovaginal ou como "sapinho", uma candidíase mucocutânea. A candidíase com frequência ocorre em recém-nascidos, pacientes com Aids e indivíduos em tratamento com antibióticos de amplo espectro (veja a Figura 21.17, página 601).

Alguns fungos podem causar doenças por meio da produção de toxinas. Essas toxinas serão discutidas no Capítulo 15.

Efeitos econômicos dos fungos

Os fungos têm sido utilizados na biotecnologia há muitos anos. *Aspergillus niger,* por exemplo, tem sido usado para produzir ácido cítrico para alimentos e bebidas desde 1914. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é utilizada na produção de pão e vinho. Ela também é geneticamente modificada para produzir várias proteínas, incluindo a vacina para a hepatite B. *Trichoderma* é utilizado comercialmente para a produção da enzima celulase, que é aplicada na remoção da parede celular de plantas para a produção de sucos de frutas melhores. Quando a droga antitumoral taxol, que é produzida por teixos, foi descoberta, houve a preocupação de que as florestas da costa nordeste dos Estados Unidos pudessem ser dizimadas para obtenção da droga. Entretanto, o fungo *Taxomyces* também produz taxol.

Os fungos são utilizados para o controle biológico de pragas. Em 1990, o fungo *Entomophaga* se proliferou de maneira inesperada e eliminou as mariposas que estavam destruindo árvores no nordeste dos Estados Unidos. Os cientistas estão investigando o uso de vários fungos para o controle de pragas:

- *Metarrhizium* cresce em raízes de plantas, e gorgulhos morrem após se alimentarem das raízes.
- Um fungo que foi primeiramente encontrado associado a insetos que se alimentavam de beringelas no Texas, Estados Unidos, pode se tornar um novo agente de controle biológico para a praga conhecida como "moscas brancas", que ocasiona grandes prejuízos para a agricultura. O fungo *Coniothyrium minitans* se alimenta de fungos que destroem culturas de soja e de feijão.
- Uma espuma com *Paecilomyces fumosoroseus* tem sido usada como alternativa biológica a produtos químicos para matar cupins que permanecem escondidos no interior de troncos de árvores e em outros locais difíceis de serem alcançados.

Em contraste a esses efeitos benéficos, os fungos podem ter efeitos indesejáveis para a agricultura devido às suas adaptações nutricionais. Como observado pela maioria de nós, os fungos que estragam frutas, grãos e vegetais são relativamente comuns, mas estragos causados por bactérias em tais alimentos não são. Existe pouca umidade nas superfícies intactas desses alimentos, e o interior das frutas é muito ácido para a maioria das bactérias se desenvolver. As geleias também tendem a ser ácidas e possuem alta pressão osmótica devido ao açúcar que contêm. Todos esses fatores desfavorecem o crescimento bacteriano, mas permitem o crescimento de fungos. Uma camada de parafina no topo do frasco de uma geleia caseira ajuda a impedir o crescimento de fungos, pois eles são em sua maioria aeróbicos, e a camada de parafina evita a entrada de oxigênio. Todavia, carne fresca e determinados alimentos são excelentes substratos para o crescimento de bactérias; elas crescem de uma maneira tal que impedem que os fungos se desenvolvam.

A castanheira, sobre a qual Longfellow escreveu, já não mais se propaga pelos Estados Unidos, com exceção de algumas pequenas localidades isoladas; uma ferrugem causada por um fungo matou todas as árvores. Essa ferrugem foi causada pelo ascomiceto *Cryphonectria parasitica,* trazido da China por volta de 1904. O fungo permite o desenvolvimento das raízes e o surgimento regular dos brotos, no entanto os mata com a mesma frequência. Castanheiras resistentes ao *Cryphonectria* estão sendo desenvolvidas. Outro fungo introduzido que causa doenças em plantas é o da doença do olmo holandês, causada por *Ceratocystis ulmi.* Carregado de árvore em árvore por um besouro que vive nas cascas das árvores, o fungo bloqueia a circulação de seiva. Essa doença tem devastado a população de olmos dos Estados Unidos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Liste os esporos assexuais e sexuais produzidos pelos Zigomicetos, Ascomicetos e Basidiomicetos. **12-3**
- ✓ As leveduras são benéficas ou prejudiciais? **12-4**

Liquens

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

12-5 Listar as características que definem os liquens e descrever suas necessidades nutricionais.

12-6 Descrever o papel dos fungos e das algas em um líquen.

Um **líquen** é uma combinação de uma alga verde (ou cianobactéria) com um fungo. Os liquens fazem parte do Reino *Fungi* e são classificados de acordo com seu parceiro fungo, a maioria das vezes um ascomiceto. Esses dois organismos convivem em uma relação *mutualística,* em que ambos se beneficiam. Os liquens são muito diferentes tanto das algas quanto dos fungos quando ambos crescem separadamente, e se as partes são separadas, o líquen deixa de existir. Cerca de 13.500 espécies de liquens ocupam habitats bastante diversos. Por poderem habitar áreas onde nem os fungos nem as algas poderiam sobreviver sozinhos, os liquens são, frequentemente, a primeira forma de vida a colonizar solos ou pedras recentemente expostos. Os liquens secretam ácidos orgânicos que quimicamente desgastam as rochas, e eles acumulam nutrientes necessários para o crescimento das plantas. Também encontrados em árvores, estruturas de concreto e telhados, os liquens são organismos que crescem de forma extremamente lenta.

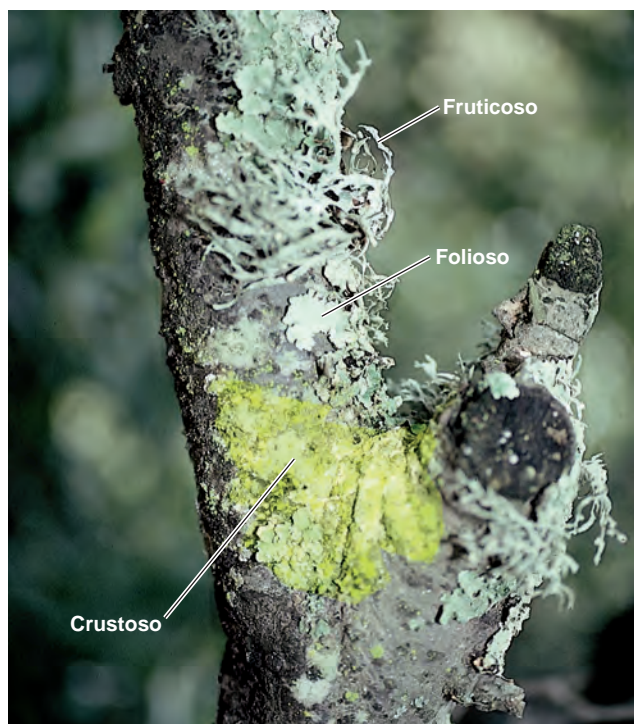
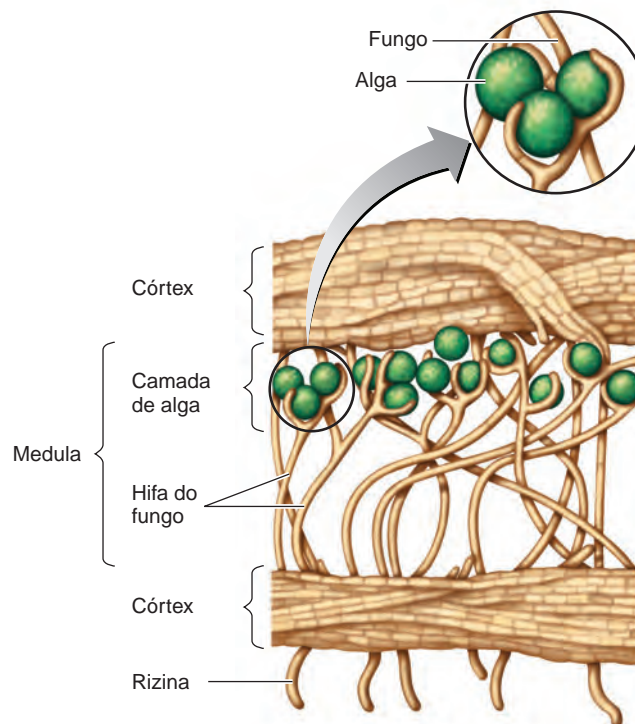
Os liquens podem ser agrupados em três categorias morfológicas (**Figura 12.9a**). Os *liquens crustosos* crescem encrustrados no substrato, os *liquens foliosos* são mais parecidos com folhas, e os *liquens fruticosos* possuem projeções semelhantes a dedos. O talo de um líquen, ou corpo, se forma quando a hifa do fungo cresce ao redor das células da alga para se tornar a **medula** (**Figura 12.9b**). A hifa do fungo projeta-se abaixo do corpo do líquen para formar **rizinas**, ou estruturas de fixação. A hifa do fungo também forma o **córtex**, ou capa protetora, em cima da camada de algas e às vezes abaixo dela. Após a incorporação como um talo de líquen, a alga continua seu crescimento, e a hifa em crescimento pode incorporar novas células de algas.

(a) Os três tipos de liquens

(b) Talo do líquen

Figura 12.9 Liquens. A medula do líquen é composta por hifas do fungo rodeando a camada de alga. O córtex protetor é uma camada de hifas do fungo que cobre a superfície e, algumas vezes, a base do líquen.

P Em quais circunstâncias os liquens são únicos?

Quando a alga é cultivada separadamente *in vitro,* cerca de 1% dos carboidratos produzidos durante a fotossíntese é liberado no meio de cultura; entretanto, quando a alga está associada ao fungo, a membrana plasmática da alga é mais permeável, e mais de 60% dos produtos da fotossíntese são liberados para o fungo ou são encontrados como produtos finais do metabolismo dos fungos. Os fungos claramente se beneficiam dessa associação. A alga, enquanto fornece valiosos nutrientes, é recompensada; recebe do fungo tanto proteção contra dessecação (córtex) quanto facilidade para fixação (rizinas).

Os liquens possuíam considerável importância econômica na Grécia antiga e em outras partes da Europa como corantes de roupas. O ácido úsnico da *Usnea* é utilizado como um agente antimicrobiano na China. Eritrolitmina, um corante utilizado em papéis indicadores de mudanças no pH, é extraído de diversos liquens. Alguns liquens ou seus ácidos podem causar dermatite de contato alérgica em humanos.

Populações de liquens prontamente incorporam cátions (íons com carga positiva) em seus talos. Desta forma, a concentração e os tipos de cátions presentes na atmosfera podem ser determinados por análise química do talo dos liquens. Além disso, a presença ou ausência de espécies que são sensíveis a poluentes pode ser utilizada para verificar a qualidade do ar. Em 1985, um estudo no vale Cuyahoga, em Ohio, nos Estados Unidos, mostrou que 81% das 172 espécies de liquens que existiam em 1917 haviam desaparecido. Como essa área estava severamente afetada pela poluição do ar, foi inferido que os poluentes do ar, principalmente o dióxido de enxofre (o maior contribuinte para a chuva ácida), causaram a morte das espécies sensíveis.

Os liquens são o principal alimento para os herbívoros das tundras, como o caribu e as renas. Após o desastre nuclear de 1986 em Chernobyl, 70 mil renas em Lapland que haviam sido criadas para alimentação tiveram que ser sacrificadas devido aos altos níveis de radiação. Os liquens dos quais as renas se alimentaram haviam absorvido césio-137 radiativo, espalhado pelo ar.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é o papel dos liquens na natureza? **12-5**

✓ Qual é o papel dos fungos em um líquen? **12-6**

Algas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

12-7 Listar as características que definem as algas.

12-8 Listar as características marcantes dos cinco filos de algas discutidos neste capítulo.

12-9 Identificar dois efeitos benéficos e dois prejudiciais das algas.

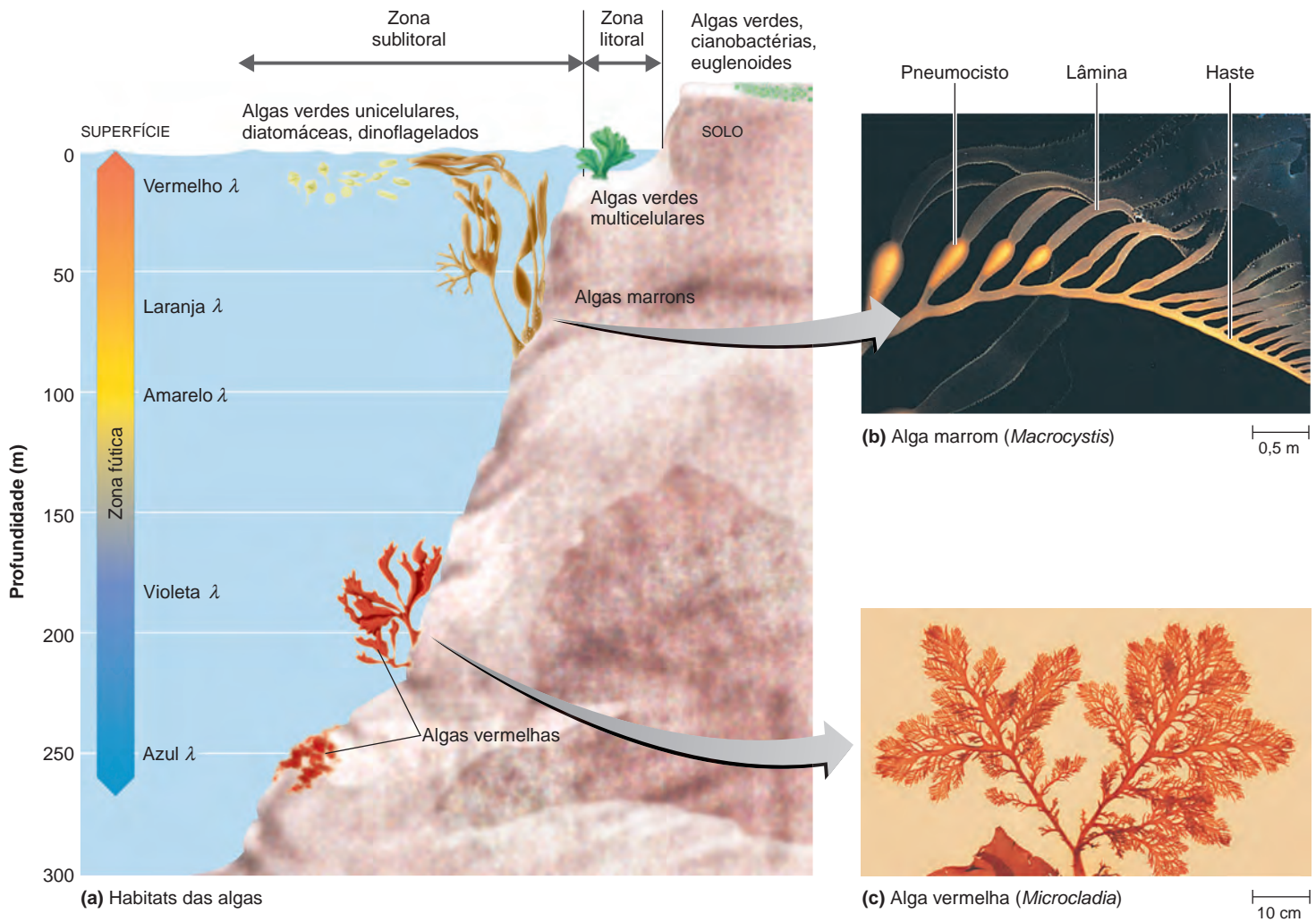



Figura 12.10 Algas e seus habitats. (a) Embora algas unicelulares e filamentosas possam ser encontradas no solo, elas frequentemente existem em ambientes marinhos, e de água doce com o plâncton. Algas vermelhas, marrons e verdes multicelulares requerem um sítio de ligação adequado, água em quantidades adequadas e luz em comprimentos de onda apropriados. **(b)** *Macrocystis porifera*, uma alga marrom. A haste é oca, e os pneumocistos, cheios de gás, mantêm o talo verticalmente, assegurando que luz solar suficiente seja recebida para o crescimento. **(c)** *Microcladia*, uma alga vermelha. As algas vermelhas delicadamente ramificadas adquirem suas cores a partir dos pigmentos acessórios, as ficobiliproteínas.

P Qual alga vermelha é toxica para os humanos?

As algas são conhecidas como as grandes placas marrons nas águas costeiras, a espuma verde em uma poça, e as manchas verdes no solo ou sobre rochas. Algumas algas são responsáveis por intoxicações alimentares. Algumas são unicelulares; outras formam cadeias de células (são filamentosas); e poucas apresentam talo.

As algas são em sua maioria aquáticas, embora algumas sejam encontradas no solo ou sobre árvores quando existe umidade suficiente. Habitats incomuns de algas incluem o pelo do urso polar e da preguiça da América do Sul. A água é necessária para suporte físico, reprodução e difusão de nutrientes. Geralmente, as algas são encontradas em águas frias temperadas, embora os grandes tapetes flutuantes da alga marrom *Sargassum* sejam encontrados nas águas subtropicais do Mar Sargaço. Algumas espécies de algas marrons crescem nas águas da Antártica.

Características das algas

As algas são organismos eucariotos fotoautotróficos relativamente simples que não possuem os tecidos (raízes, caules e folhas) típicos de plantas. A identificação de algas filamentosas e unicelulares requer exame microscópico. A maioria das algas é encontrada nos oceanos. A localização destes organismos depende da disponibilidade de nutrientes apropriados, comprimento de onda da luz e superfícies sobre as quais eles crescem. As prováveis localizações de algas representativas são mostradas na **Figura 12.10a**.

Estruturas vegetativas

O corpo de uma alga multicelular é chamado de talo. Os talos de grandes algas multicelulares, comumente chamadas de macroalgas marinhas ("charutos do mar"), consistem em **estruturas de fixação** ramificadas (que fixam a alga em uma rocha), **hastes** cauliformes e frequentemente ocas e **lâminas** semelhantes a folhas (Figura 12.10b). As células recobrindo o talo podem realizar fotossíntese. O talo não apresenta um tecido condutor (xilema e floema), característico de plantas vasculares; as algas absorvem nutrientes da água através de toda a superfície do corpo. A haste não é lignificada ou lenhosa, não oferecendo o suporte de um caule de planta; no lugar, a água circundante suporta o talo algal. Algumas algas apresentam também uma vesícula cheia de gás flutuante chamada de *pneumarocisto*.

Ciclo de vida

Todas as algas podem se reproduzir assexuadamente. As algas multicelulares com talos e formas filamentosas podem se fragmentar; cada pedaço é capaz de formar um novo talo ou filamento. Quando uma alga unicelular se divide, seu núcleo se divide (mitose), e os dois núcleos se movem para as extremidades opostas da célula. A célula então se divide em duas células completas (citocinese).

A reprodução sexuada ocorre nas algas (Figura 12.11). Em algumas espécies, a reprodução assexuada pode ocorrer por várias gerações e, então, sob diferentes condições, a mesma espécie se reproduz de maneira sexuada. Outras espécies alternam gerações de forma que a prole resultante da reprodução sexuada se reproduza assexuadamente, e a geração seguinte então se reproduz sexuadamente.

Nutrição

Alga é um nome comum que inclui diversos filos (Tabela 12.4). A maioria das algas é fotossintética; contudo, os oomicetos, ou algas semelhantes a fungos, são quimio-heterotróficos. As algas fotossintéticas são encontradas ao longo da zona fótica (luz) dos corpos aquáticos. A clorofila *a* (um pigmento que absorve a luz) e pigmentos acessórios envolvidos na fotossíntese são responsáveis pelas cores distintas encontradas em muitas algas.

As algas são classificadas de acordo com suas sequências de rRNA, estrutura, pigmentos e outras propriedades (veja a Tabela 12.4). A seguir são descritos alguns dos filos das algas.

Filos selecionados das algas

As *algas marrons*, ou algas marinhas, são macroscópicas; algumas atingem 50 m de comprimento (veja a Figura 12.10b). A maioria das algas marrons é encontrada nas águas costeiras. As algas marrons têm uma taxa de crescimento fenomenal. Algumas crescem em taxas que excedem 20 cm por dia, podendo ser colhidas regularmente. **Algina**, um espessante utilizado em muitos alimentos (tais como sorvetes e decoração de bolos), é extraída da parede celular dessas algas. A algina também é usada na produção de uma grande variedade de produtos não comestíveis, incluindo pneus e cremes para as mãos. A alga marrom *Laminaria japonica* é utilizada para induzir dilatação vaginal antes de procedimento cirúrgico no útero através da vagina.

A maioria das *algas vermelhas* tem o talo delicadamente ramificado e pode viver a maiores profundidades oceânicas do que

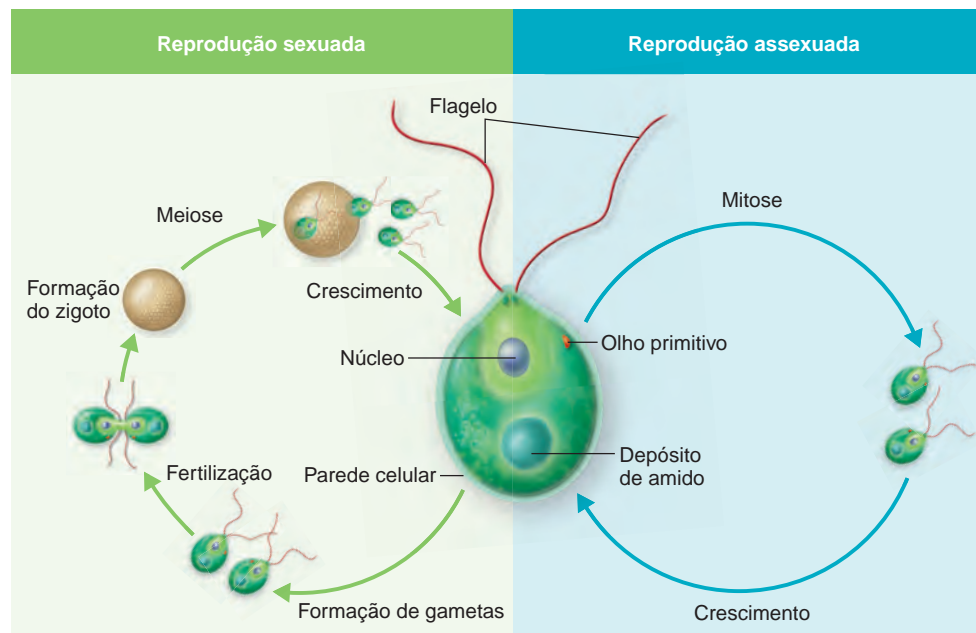
(a) Alga verde multicelular (*Ulva*)

(b) Ciclo de vida de uma alga verde unicelular (*Chlamydomonas*)

Figura 12.11 Alga verde. (a) A alga verde multicelular *Ulva*. **(b)** Ciclo de vida da alga verde unicelular *Chlamydomonas*. Dois flagelos tipo chicote propulsionam essa célula.

P Qual é o papel principal das algas no ecossistema?

Tabela 12.4 Características de filos selecionados de algas

	Algas marrons	Algas vermelhas	Algas verdes	Diatomáceas	Dinoflagelados	Mofos aquáticos
Filo	*Phaeophyta*	*Rhodophyta*	*Chlorophyta*	*Bacillariophyta*	*Dinoflagellata*	*Oomycota*
Cor	Coloração marrom	Avermelhada	Verde	Coloração marrom	Coloração marrom	Incolor, branca
Parede celular	Celulose e ácido algínico	Celulose	Celulose	Pectina e sílica	Celulose na membrana	Celulose
Organização celular	Multicelular	A maioria é multicelular	Unicelular e multicelular	Unicelular	Unicelular	Multicelular
Pigmentos fotossintéticos	Clorofilas *a* e *c*, xantofila	Clorofilas *a* e *d*, ficobiliproteínas	Clorofilas *a* e *b*	Clorofilas *a* e *c*, caroteno, xantofila	Clorofilas *a* e *c*, caroteno, xantofila	Nenhum
Reprodução sexuada	Sim	Sim	Sim	Sim	Em alguns (?)	Sim (similar aos *Zygomycota*)
Material de reserva	Carboidrato	Polímero de glicose	Polímero de glicose	Óleo	Amido	Nenhum

outras algas (veja a Figura 12.10c). Os talos de algumas algas vermelhas formam uma cobertura semelhante a uma crosta sobre as rochas e conchas. Os pigmentos vermelhos permitem que as algas vermelhas absorvam a luz azul que penetra nas regiões mais profundas dos oceanos. O ágar usado nos meios microbiológicos é extraído de muitas algas vermelhas. Outro material gelatinoso, a carragenina, vem de uma espécie de alga vermelha comumente conhecida como musgo irlandês. A carragenina e o ágar podem ser ingredientes espessantes de leites evaporados, sorvetes e agentes farmacêuticos. Espécies de *Gracilaria*, as quais crescem no oceano Pacífico, são utilizadas pelo homem como alimento. Contudo, membros desse gênero podem produzir uma toxina letal.

As *algas verdes* têm celulose na parede celular, contêm clorofilas *a* e *b*, e estocam amido, como as plantas (veja a Figura 12.11a). Acredita-se que as algas verdes tenham dado origem às plantas terrestres. A maioria das algas verdes é microscópica, embora possam ser tanto unicelulares quanto multicelulares. Alguns tipos filamentosos formam uma espuma verde em lagoas.

Diatomáceas, dinoflagelados e fungos aquáticos são agrupados no Reino *Stramenopila*. As *diatomáceas* (**Figura 12.12**) são algas unicelulares ou filamentosas com uma parede celular complexa que consiste em pectina e uma camada de sílica. As duas partes da parede celular se encaixam como as duas partes de uma placa de Petri. Os padrões distintos das paredes são ferramentas úteis na identificação das diatomáceas. Elas armazenam a energia capturada através da fotossíntese na forma de óleo.

O primeiro relato de um surto de uma doença neurológica provocado por diatomáceas foi registrado em 1987 no Canadá. As pessoas afetadas comeram mexilhões que tinham se alimentado de diatomáceas. As diatomáceas produzem o *ácido domoico*, uma toxina que estava concentrada nos mexilhões. Os sintomas incluíram diarreia e perda de memória. A taxa de mortalidade foi menor que 4%. Desde 1991, centenas de aves marinhas e leões-marinhos têm morrido pela mesma **intoxicação** com **ácido domoico** na Califórnia.

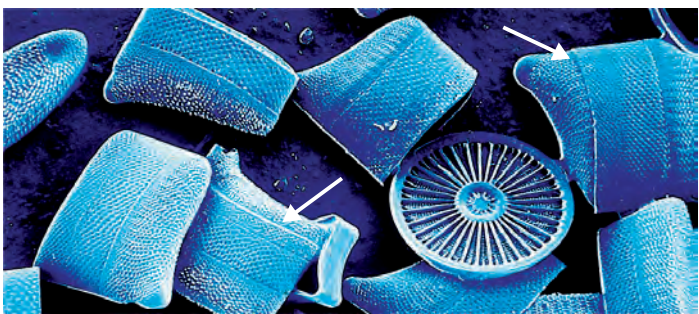
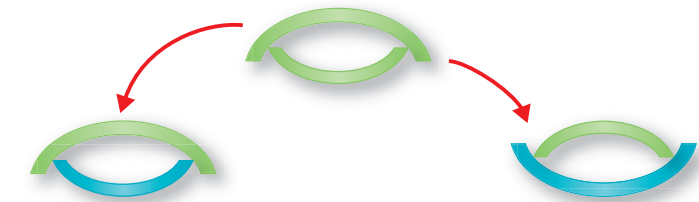



Figura 12.12 Diatomáceas. (a) Nesta micrografia de *Isthmia nervosa*, observe como as duas partes da parede celular se encaixam juntas, como mostrado pelas setas. **(b)** Reprodução assexuada em uma diatomácea. Durante a mitose, cada célula-filha retém metade da parede celular do parental (verde) e precisa sintetizar a metade que falta (azul).

P Qual doença humana é causada pelas diatomáceas?

Dinoflagelados são algas unicelulares coletivamente chamadas de **plâncton**, ou organismos de livre flutuação (**Figura 12.13**). Sua estrutura rígida é devida à celulose presente na membrana plasmática. Alguns dinoflagelados produzem neurotoxinas. Nos últimos 20 anos, um aumento mundial de algas marinhas tóxicas matou milhões de peixes, centenas de mamíferos marinhos e até mesmo

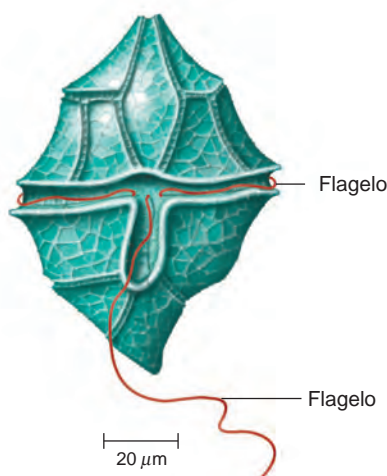



Figura 12.13 ***Peridinium*, um dinoflagelado.** Semelhante a alguns outros dinoflagelados, o *Peridinium* tem dois flagelos em cavidades opostas e perpendiculares. Quando os dois flagelos batem simultaneamente, fazem a célula girar.

P Quais doenças humanas são causadas por dinoflagelados?

seres humanos. Quando um peixe nada por meio de um grande número de dinoflagelados *Gymnodinium breve*, as algas presas nas brânquias liberam uma neurotoxina que paralisa a respiração do peixe. Os dinoflagelados do gênero *Alexandrium* produzem neurotoxinas (chamadas de **saxitoxinas**) que causam **paralisia por envenenamento de moluscos** (**PSP**, de *paralytic shellfish poisoning*). A toxina é concentrada quando um grande número de dinoflagelados é ingerido por moluscos, tais como mexilhões e mariscos. As pessoas que ingerem esses moluscos desenvolvem PSP. Grandes concentrações de *Alexandrium* conferem ao oceano a coloração vermelho-escuro, originando o nome **maré vermelha** (Figura 27.13, página 779). Os moluscos não devem ser consumidos durante a maré vermelha. Uma doença conhecida como **ciguatera** ocorre quando o dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus* sobe a cadeia alimentar e é consumido pelos peixes maiores. A ciguatera é endêmica (constantemente presente) no sul do Oceano Pacifico e no Mar do Caribe. Uma nova doença associada aos *Pfiesteria* é responsável pela grande mortandade de peixes ao longo da Costa Atlântica.

A maioria dos *fungos aquáticos*, ou *Oomycetes*, é de decompositores. Eles formam massas cotonosas (parecidas com algodão) sobre algas ou animais mortos, geralmente em água doce (**Figura 12.14a**). Assexuadamente, os oomicetos se assemelham aos fungos zigomicetos, pois produzem esporos em um esporângio (saco de esporos). Contudo, os esporos dos oomicetos, chamados de **zoósporos** (**Figura 12.14b**), têm dois flagelos; fungos não têm flagelos. Por causa da similaridade superficial com os fungos, os oomicetos foram previamente classificados com eles. Suas paredes celulares de celulose sempre sugeriram uma relação com as algas, e análises de DNA recentes confirmaram que os oomicetos estão mais próximos filogeneticamente das diatomáceas e dos dinoflagelados que dos fungos. Muitos dos oomicetos terrestres são parasitas de plantas. O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos inspeciona as plantas importadas busca de ferrugem branca e outros parasitas. Viajantes ou mesmo importadores de plantas não imaginam que uma pequena inflorescência ou propágulo pode carrear uma praga que é capaz de causar um prejuízo de milhões de dólares para a agricultura dos Estados Unidos.

P&R Na Irlanda, por volta de 1890, 1 milhão de pessoas morreram quando a safra de batatas do país foi destruída. A alga *Phytophthora infestans*, que causou a doença que dizimou as plantações de batatas, foi um dos primeiros micro-organismos a ser associado com uma doença. Atualmente, *Phytophthora* infecta soja, batata e cacau em vários lugares do mundo. A hifa vegetativa produz zoósporos móveis e hifas sexuais especializadas (veja a Figura 12.14). Todas as linhagens dos Estados Unidos são de uma linhagem sexual de cruzamento, chamada de A1. Na década de 1990, a outra linhagem sexual, A2, foi identificada nos Estados Unidos. Quando em contato, A1 e A2 se diferenciam para produzir gametas haploides que podem cruzar para formar um zigoto. Quando o zigoto germina, a alga resultante tem genes de ambas as linhagens parentais.

Na Austrália, *P. cinnamoni* infectou cerca de 20% de uma espécie de eucalipto. *Phytophthora* foi introduzida nos Estados Unidos na década de 1990 e causou uma ampla devastação nas culturas de frutas e vegetais. Quando as árvores de carvalho da Califórnia subitamente começaram a morrer em 1995, os cientistas da Universidade da Califórnia identificaram a causa dessa "morte súbita dos carvalhos" como sendo uma nova espécie, *P. ramorum*, que também infecta sequoias.

O papel das algas na natureza

As algas são uma parte importante de muitas cadeias alimentares aquáticas porque fixam o dióxido de carbono em moléculas orgânicas, que podem ser consumidas pelos quimio-heterotróficos. Utilizando a energia produzida na fotofosforilação, as algas convertem o dióxido de carbono da atmosfera em carboidratos. O oxigênio molecular (O_2) é um subproduto de sua fotossíntese. Os primeiros metros de muitos corpos de água contêm algas planctônicas. Como 75% da Terra são cobertos por água, a estimativa é de que 80% do O_2 da Terra sejam produzidos pelas algas planctônicas.

Variações sazonais nos nutrientes, na luz e na temperatura causam flutuações nas populações de algas; aumentos periódicos no número de algas planctônicas são chamados de **florescência de alga** (*blooms*). A florescência de dinoflagelados é responsável pelas marés vermelhas sazonais. Florescências de certas espécies indicam que a água na qual elas crescem está poluída porque essas algas desenvolvem-se nas altas concentrações de matéria orgânica que existem no esgoto e em dejetos industriais. Quando as algas morrem, a decomposição de um grande número de células, associadas com florescência de algas, diminui o nível de oxigênio dissolvido na água. (Esse fenômeno é discutido no Capítulo 27.)

Uma grande parte do petróleo mundial foi formada a partir de diatomáceas e outros organismos planctônicos que viveram vários milhões de anos atrás. Quando esses micro-organismos morreram e foram enterrados por sedimentos, as moléculas orgânicas que eles continham não foram decompostas para re-

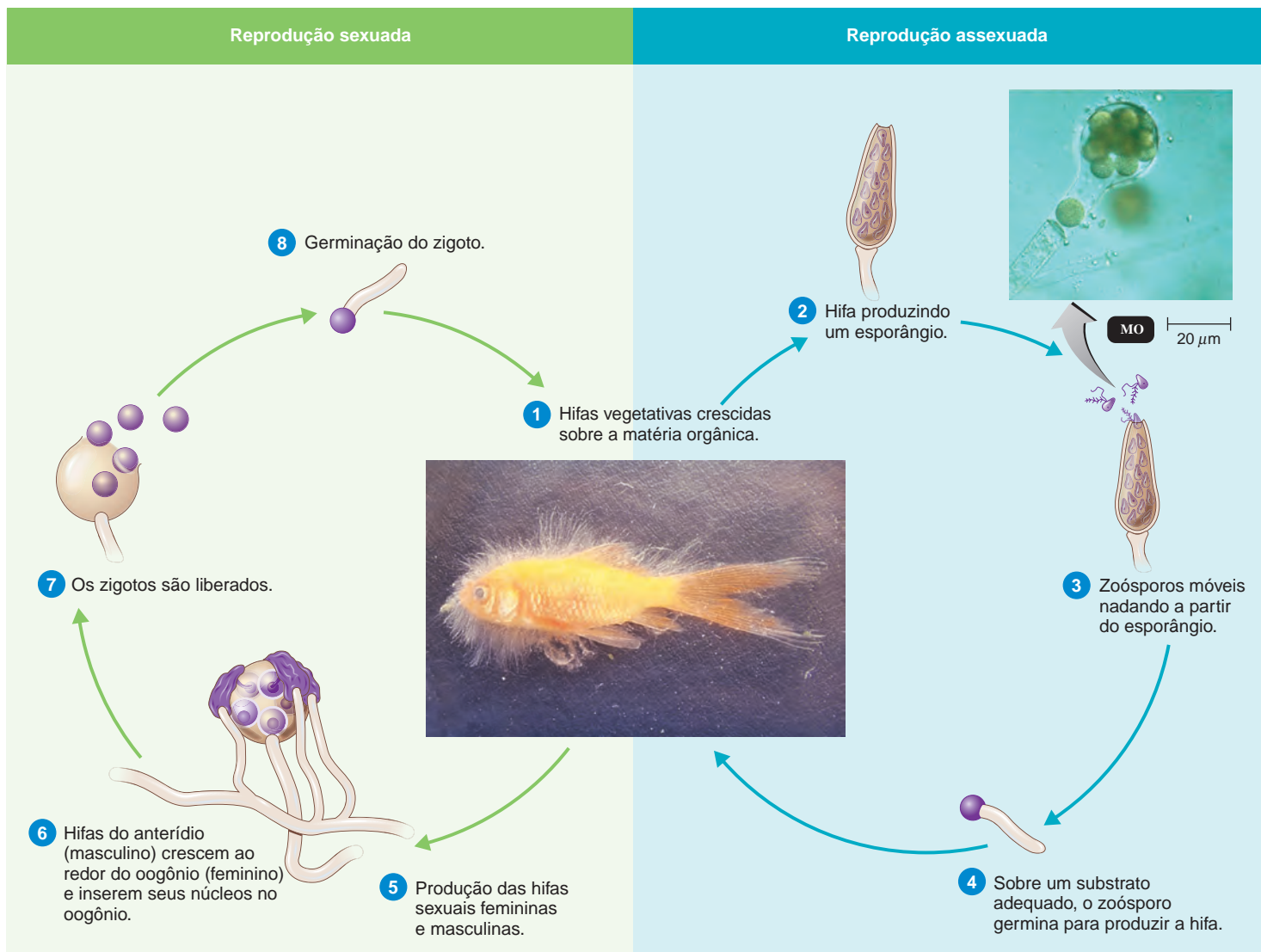



Figura 12.14 **Oomicetos.** Estas algas semelhantes a fungos são decompositores comuns em água doce. Algumas causam doenças em peixes e plantas terrestres. Note a massa cotonosa de *Saprolegnia ferax* sobre o peixe.

P Os oomicetos são mais relacionados com *Penicillium* ou com as diatomáceas?

tornarem ao ciclo do carbono como CO_2. O calor e a pressão resultantes dos movimentos geológicos da Terra alteraram o óleo armazenado nas células, assim como as membranas celulares. O oxigênio e outros elementos foram eliminados, deixando um resíduo de hidrocarbonetos na forma de depósitos de petróleo e gás natural.

Muitas algas unicelulares são simbiontes em animais. O molusco gigante *Tridacna* desenvolveu órgãos especiais que abrigam dinoflagelados. Como o molusco vive em águas rasas, as algas proliferam nesses órgãos quando eles estão expostos ao sol. As algas liberam glicerol na corrente sanguínea dos moluscos, suprindo as necessidades de carboidrato desses animais. Além disso, evidências sugerem que o molusco obtém proteínas essenciais pela fagocitose de algas velhas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como as algas diferem das bactérias? E dos fungos? **12-7**
- ✓ Liste a composição da parede celular e as doenças causadas pelas seguintes algas: diatomáceas, dinoflagelados, oomicetos. **12-8, 12-9**

Protozoários

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

12-10 Listar as características que definem os protozoários.

12-11 Descrever as características mais importantes dos sete filos de protozoários discutidos neste capítulo e apresentar um exemplo de cada.

12-12 Diferenciar um hospedeiro intermediário de um hospedeiro definitivo.

Figura 12.15 Conjugação do protozoário ciliado *Paramecium*. A reprodução sexuada em ciliados ocorre por conjugação. Cada célula tem dois núcleos: um micronúcleo e um macronúcleo. O micronúcleo é haploide e é especializado para a conjugação. Um micronúcleo de cada célula migrará para a outra célula durante a conjugação. Ambas as células produzirão, portanto, duas células-filhas. Os cromossomos condensados são visíveis no micronúcleo.

P A conjugação resulta na formação de mais células?

Os protozoários são organismos unicelulares, eucarióticos quimio-heterotróficos. Entre os protozoários existem muitas variações da estrutura celular, como será observado. Os protozoários habitam a água e o solo. No estágio de alimentação e crescimento, ou **trofozoíto**, alimentam-se de bactérias e pequenas partículas nutrientes. Alguns protozoários fazem parte da microbiota normal dos animais. *Nosema locustae*, um patógeno de inseto, é vendido comercialmente como um inseticida não tóxico utilizado para matar gafanhotos. Devido ao fato de os protozoários serem específicos para os gafanhotos, eles não afetam os humanos ou os animais que se alimentam desses insetos. Formigas-de-fogo (*fire ants*) causam prejuízo de milhões de dólares à agricultura a cada ano nos Estados Unidos e podem causar picadas dolorosas. Os pesquisadores do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos estão estudando um protozoário que reduz a produção de ovos por essas formigas. Existem cerca de 20.000 espécies de protozoários, e um número relativamente pequeno provoca doenças em humanos. No entanto, possuem um grande impacto econômico e na saúde. Por exemplo, a malária é a quarta causa de morte no mundo.

Características dos protozoários

O termo *protozoan* significa "primeiro animal", que geralmente descreve sua nutrição semelhante a dos animais. Além de se alimentarem, os protozoários devem-se reproduzir, e espécies parasitas devem ser capazes de ir de um hospedeiro para outro.

Ciclo de vida

Os protozoários se reproduzem assexuadamente por fissão, brotamento ou esquizogonia. **Esquizogonia** é uma fissão múltipla; o núcleo se divide múltiplas vezes antes da divisão celular. Após muitos núcleos serem formados, uma pequena porção do citoplasma se concentra ao redor de cada núcleo, e então a célula se separa em células-filhas.

A reprodução sexuada já foi observada em alguns protozoários. Os ciliados, como o *Paramecium*, se reproduzem sexualmente por **conjugação** (Figura 12.15), que é muito diferente do processo bacteriano de mesmo nome (veja a Figura 8.26, página 237). Durante a conjugação dos protozoários, duas células se fundem, e um núcleo haploide (o micronúcleo) de cada célula migra para a outra célula. Esse micronúcleo haploide se funde com o micronúcleo que está dentro da célula. As células parentais se separam, e cada uma se torna uma célula fertilizada. Depois, quando as células se dividem, elas produzem células-filhas com o DNA recombinado. Alguns protozoários produzem **gametas** (**gametócitos**), células sexuais haploides. Durante a reprodução, os dois gametas se fundem para formar um zigoto diploide.

Encistamento. Sob certas condições adversas, alguns protozoários produzem uma cápsula protetora chamada de **cisto**. Um cisto permite que o organismo sobreviva na ausência de alimento, umidade ou oxigênio, quando as temperaturas não são adequadas, ou quando compostos tóxicos estão presentes. Um cisto também permite que uma espécie parasita seja capaz de sobreviver fora de um hospedeiro. Isso é importante, pois os protozoários parasitas podem precisar ser excretados de um hospedeiro para precisar chegar a um novo. O cisto formado nos membros do filo *Apicomplexa* é chamado de **oocisto** e é uma estrutura reprodutiva a partir da qual novas células são produzidas assexuadamente.

Nutrição

Os protozoários são em sua maioria heterotróficos aeróbicos, embora muitos protozoários intestinais sejam capazes de crescer em anaerobiose. Dois grupos contendo clorofila, dinoflagelados e euglenoides, frequentemente são estudados com as algas.

Todos os protozoários vivem em áreas com grande suprimento de água. Alguns protozoários transportam o alimento através da membrana plasmática. Contudo, alguns apresentam uma cobertura protetora, ou *película*, e necessitam de estruturas especializadas para obter o alimento. Os ciliados se alimentam por ondulação de seus cílios em direção a uma estrutura semelhante a uma boca aberta chamada de **citóstoma**. As amebas engolfam o alimento circundante envolvendo-o com pseudópodes e causando a fagocitose. Em todos os protozoários, a digestão ocorre em **vacúolos** envolvidos por membranas, e os dejetos podem ser eliminados através da membrana plasmática ou de um **poro anal** especializado.

Filos de protozoários de importância médica

A biologia dos protozoários será discutida neste capítulo. As doenças causadas pelos protozoários são descritas na Parte Quatro.

Os protozoários são um grupo grande e diverso. Os esquemas atuais de classificação das espécies de protozoários em filos são baseadas no sequenciamento do rRNA. Os pesquisadores começaram a organizar os grupos de protistas com base em sua história evolutiva, isto é, membros em um grupo derivados de um único ancestral. Atualmente, os seguintes grupos são filos de protistas. À medida que mais informações forem obtidas, alguns desses grupos podem ser classificados como reinos distintos, e outros podem ser agrupados com outros reinos pertencentes ao Domínio *Eukarya*.

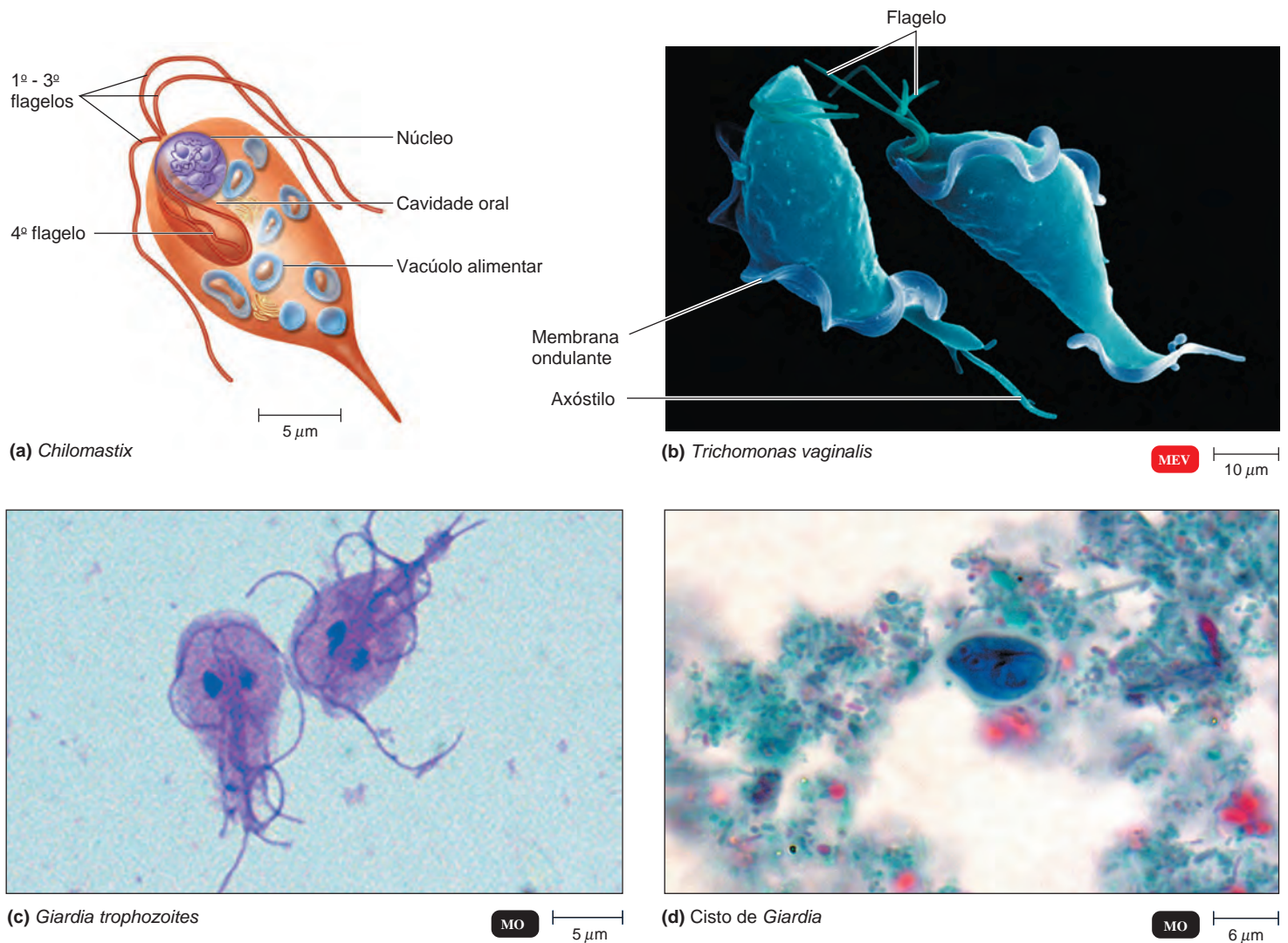



Figura 12.16 ***Archaezoa*.** **(a)** *Chilomastix*. Esse flagelado, encontrado no intestino humano, pode ser moderadamente patogênico. Os cistos sobrevivem por meses fora do hospedeiro humano. O quarto flagelo é usado para trazer o alimento para dentro da cavidade oral, onde os vacúolos alimentares são formados. **(b)** *Trichomonas vaginalis*. Esse flagelado provoca infecções no trato genital e urinário. Observe a pequena membrana ondulada. Esse flagelado não tem um estágio de cisto. **(c)** *Giardia*. O trofozóito desse parasita intestinal tem oito flagelos e dois núcleos proeminentes, dando-lhe uma aparência distinta. **(d)** O cisto de *Giardia* a protege do ambiente antes que ela seja ingerida por um novo hospedeiro.

P **Como os arquezoanos obtêm energia sem a ajuda da mitocôndria?**

Archaezoa

Os ***Archaezoa*** são eucariotos que não possuem mitocôndrias. Eles têm uma organela singular chamada de **mitossomo**. Os mitossomos aparentam ser remanescentes de mitocôndria, que estava presente em um ancestral de *archaezoa*. Muitos *Aarchaezoa* vivem em simbiose no trato digestório de animais. Os *Archaezoa* são tipicamente em forma de fuso, com flagelos projetados na extremidade frontal (**Figura 12.16a**). A maioria apresenta dois ou mais flagelos.

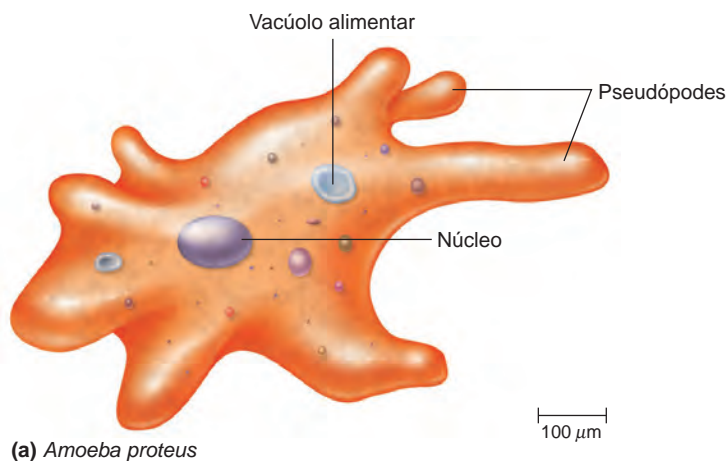
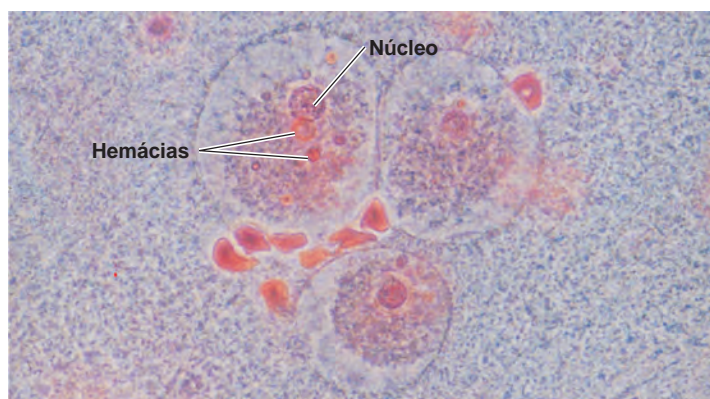
Um exemplo de um arquezoano parasita de humanos é o *Trichomonas vaginalis*, mostrado na **Figura 12.16b** e na Figura 26.16, página 760. Como os outros flagelados, o *T. vaginalis* tem uma **membrana ondulante**, que consiste em uma membrana com um flagelo na extremidade. O *T. vaginalis* não apresenta estágio de cisto e precisa ser transferido rapidamente de um hospedeiro para outro antes que a dessecação ocorra. O *T. vaginalis* é encontrado na vagina e no trato urinário masculino. Normalmente, esse pro-

(a) *Amoeba proteus*

(b) *Entamoeba histolytica*

Figura 12.17 ***Amoebozoa*.** **(a)** Para mover e engolfar o alimento, as amebas (como a *Amoeba proteus*) estendem estruturas citoplasmáticas chamadas de pseudópodes. Os vacúolos alimentares são formados quando os pseudópodes circundam o alimento e o trazem para dentro da célula. **(b)** *Entamoeba histolytica*. A presença de células vermelhas do sangue (hemácias) ingeridas é uma forma de diagnosticar a presença de *Entamoeba*.

P Quais são as diferenças entre a disenteria causada por amebas e a disenteria causada por bacilos?

tozoário é transmitido por relação sexual, mas também pode ser transmitido em banheiros ou por toalhas.

Outro arquezoano parasita é a *Giardia lamblia*, algumas vezes chamada de *G. duodenalis*. Esse parasita (veja a **Figura 12.16c** e a Figura 25.17, página 730) é encontrado no intestino delgado de humanos e outros mamíferos, sendo excretado nas fezes na forma de cisto (**Figura 12.16d**), e sobrevive no ambiente até ser ingerido pelo próximo hospedeiro. O diagnóstico de giardíase, a doença causada por *G. lamblia*, frequentemente tem como base a identificação de cistos nas fezes.

Microspora

Microspora, como os *Archaezoa*, são eucariotos incomuns porque não possuem mitocôndrias. Microsporas não possuem microtúbulos (veja o Capítulo 4, página 98) e são parasitas intracelulares obrigatórios. Os protozoários microsporidiais têm sido registrados desde 1984 como causa de várias doenças em humanos, incluindo diarreia crônica e ceratoconjuntivite (inflamação da conjuntiva perto da córnea), principalmente em pacientes com Aids.

Amoebozoa

Os ***Amoebozoa***, ou amebas, movem-se estendendo projeções tipo lóbulos do citoplasma chamadas de **pseudópodes** (**Figura 12.17a**). Qualquer número de pseudópodes pode derivar de um lado da ameba, e o restante da célula deslizar para os pseudópodes.

Entamoeba histolytica é a única ameba patogênica encontrada no intestino humano. Aproximadamente 10% da população humana podem estar colonizados por essa ameba. Novas técnicas, incluindo análises de DNA e ligações tipo lectina, revelaram que as amebas que se acreditava serem *E. histolytica* são na verdade duas espécies distintas. A espécie não patogênica *E. dispar* é a mais comum. A *E. histolytica* invasiva (**Figura 12.17b**) causa disenteria amebiana. No intestino de humanos, *E. histolytica* utiliza as proteínas chamadas de lectinas para se ligar à galactose da membrana plasmática e causar lise celular. *E. dispar* não possui lectinas que se ligam à galactose. *Entamoeba* é transmitida entre humanos pela ingestão dos cistos que são excretados nas fezes das pessoas infectadas. *Acanthamoeba* crescendo na água, inclusive água potável, pode infectar a córnea e causar cegueira.

Desde 1990, *Balamuthia* tem sido relatada como a causa de abscessos cerebrais, chamados de encefalite amebiana granulomatosa, nos Estados Unidos e em outros países. A ameba quase sempre infecta pessoas imunocomprometidas. Como a *Acanthamoeba*, *Balamuthia* é uma ameba de vida livre encontrada na água e não é transmitida entre seres humanos.

Apicomplexa

Os ***Apicomplexa*** não se locomovem quando adultos e são parasitas intracelulares obrigatórios. Esses protozoários são caracterizados pela presença de um complexo de organelas especiais nos ápices (extremidades) de suas células (por isso o nome do filo). As organelas desses complexos apicais contêm enzimas que penetram os tecidos dos hospedeiros.

Apicomplexa apresenta um ciclo de vida complexo que envolve a transmissão entre vários hospedeiros. Um exemplo de um *Apicomplexa* é o *Plasmodium*, o agente causador da malária. Essa doença afeta 10% da população mundial, com cerca de 300 a 500 milhões de novos casos por ano. O ciclo de vida complexo do parasita dificulta o desenvolvimento de uma vacina contra a malária.

O *Plasmodium* cresce por reprodução sexuada no mosquito *Anopheles* (**Figura 12.18**). Quando um *Anopheles* carreando o estágio infectivo do *Plasmodium*, chamado de **esporozoíto**, pica um humano, os esporozoítos podem ser injetados. Os esporozoítos sofrem esquizogonia nas células do fígado e produzem milhares de progênies chamadas de **merozoítos**, os quais infectam as células vermelhas do sangue.

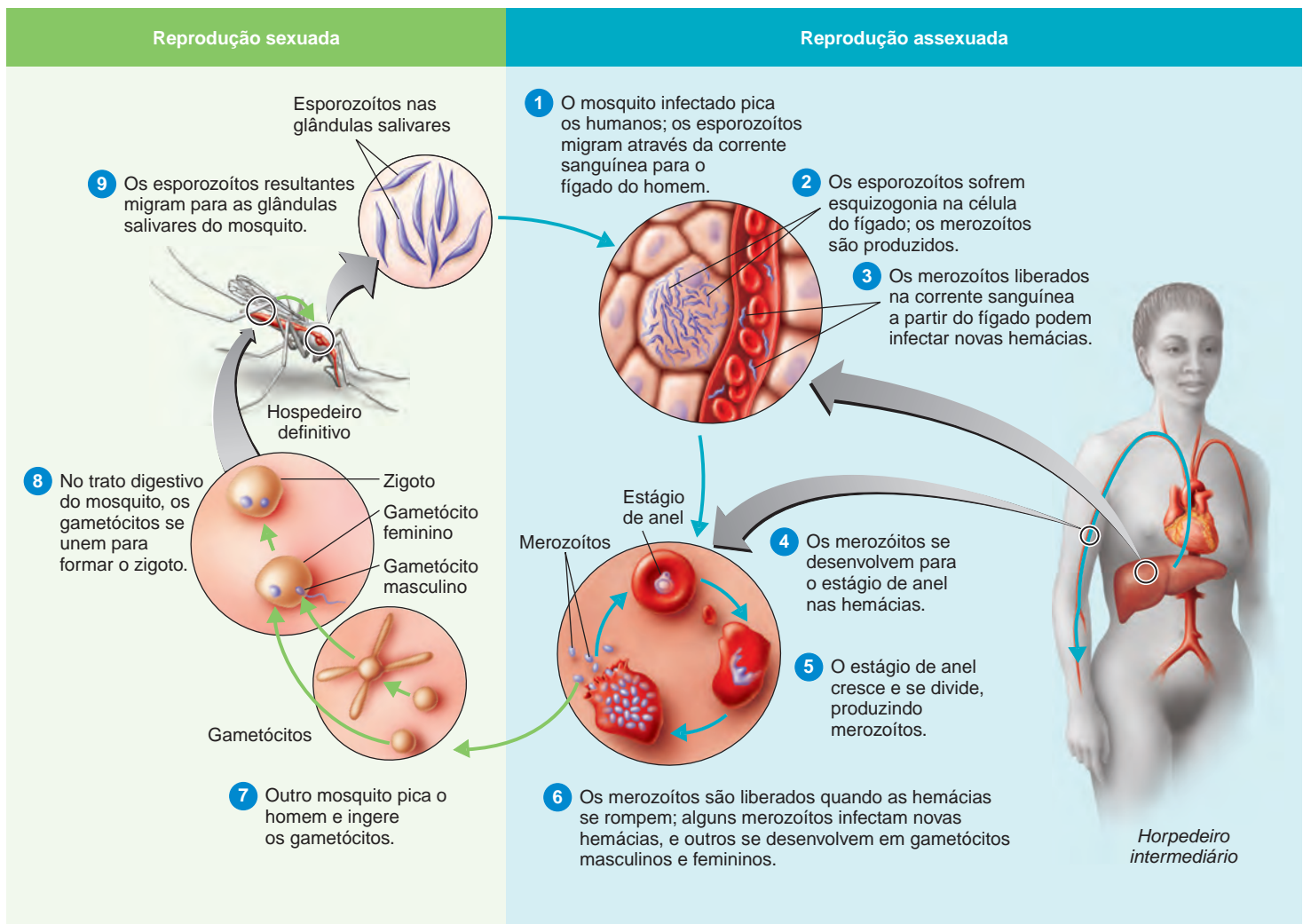



Figura 12.18 O ciclo de vida do *Plasmodium vivax*, o *Apicomplexa* que causa a malária. A reprodução assexuada (esquizogonia) do parasita ocorre no fígado e nas hemácias de um hospedeiro humano. A reprodução sexuada ocorre no intestino de um *Anopheles* após o mosquito ter ingerido os gametócitos.

P Qual é o hospedeiro definitivo do *Plasmodium*?

Os trofozoítos jovens assemelham-se a um anel no qual o núcleo e o citoplasma são visíveis. Essa fase é chamada de **estágio de anel** (veja a Figura 23.25b, página 664). As células vermelhas do sangue eventualmente se rompem e liberam mais merozoítos. Após liberados, os merozoítos liberam produtos, que causam febre e calafrios. A maioria dos merozoítos infecta novas hemácias e perpetua seu ciclo de reprodução assexuada. Contudo, alguns se desenvolvem em formas sexuais masculinas e femininas (gametócitos). Embora os gametócitos por si só não causem danos adicionais, eles podem ser colhidos pela picada de outro *Anopheles*, entrar no intestino do mosquito e começar seu ciclo sexual. A progênie pode então ser injetada em um novo hospedeiro humano pela picada do mosquito.

O mosquito é o **hospedeiro definitivo** porque abriga o estágio de reprodução sexuada do *Plasmodium*. O hospedeiro no qual o parasita se reproduz assexuadamente (nesse caso, nos humanos) é **o hospedeiro intermediário**.

A malária é diagnosticada em laboratório por observação microscópica de esfregaços de sangue para a presença de *Plasmodium* (veja a Figura 23.25, página 664). Uma característica peculiar da malária é que o intervalo entre os períodos de febre causada pela liberação dos merozoítos é sempre o mesmo para uma determinada espécie de *Plasmodium* e é sempre múltiplo de 24 horas. A razão e o mecanismo para tanta precisão têm intrigado os cientistas. Afinal, por que um parasita necessita de um relógio biológico? O desenvolvimento do *Plasmodium* é regulado pela

temperatura corporal do hospedeiro, o que normalmente varia em um período de 24 horas. O parasita cronometra cuidadosamente para que os gametócitos estejam maduros à noite, quando os *Anopheles* estão se alimentando, para facilitar a transmissão para um novo hospedeiro.

Outro *Apicomplexa* parasita de hemácias é a *Babesia microti*, que causa febre e anemia em indivíduos imunossuprimidos. Nos Estados Unidos, ela é transmitida através da picada do carrapato *Ixodes scapularis*.

Toxoplasma gondii é outro *Apicomplexa* parasita intracelular de humanos. O ciclo de vida desse parasita envolve gatos domésticos. Os trofozoítos, chamados de **taquizoítos**, reproduzem-se sexuada e assexuadamente em um gato infectado, e os **oocistos**, cada um contendo oito esporozoítos, são excretados nas fezes. Se os oocistos são ingeridos pelos humanos ou outros animais, os esporozoítos emergem como trofozoítos, que podem se reproduzir nos tecidos do novo hospedeiro (veja a Figura 23.23, página 662). *T. gondii* é perigoso para mulheres grávidas, pois pode causar infecções congênitas no útero. O exame dos tecidos e a observação de *T. gondii* são usados para o diagnóstico. Os anticorpos podem ser detectados por ELISA e por testes indiretos de anticorpos fluorescentes (veja o Capítulo 18).

Cryptosporidium vive dentro das células que revestem o intestino delgado e pode ser transmitido para os humanos através das fezes de gado, cachorros e gatos. Dentro da célula hospedeira, cada *Cryptosporidium* forma quatro oocistos (veja a Figura 25.18, página 731), cada um contendo quatro esporozoítos. Quando os oocistos se rompem, os esporozoítos podem infectar novas células do hospedeiro ou ser liberados nas fezes. Veja o quadro na página 355.

Durante a década de 1980, epidemias de diarreia transmitidas pela água foram identificadas em todos os continentes exceto na Antártica. O agente causador foi erroneamente identificado como uma cianobactéria porque os surtos ocorreram durante os meses quentes, e o agente da doença se parecia com uma célula procariótica. Em 1993, o organismo foi identificado como um *Apicomplexa* similar ao *Cryptosporidium*. Em 2004, o novo parasita, chamado de *Cyclospora cayetanensis*, foi responsável por 300 casos de diarreia associados a ervilhas nos Estados Unidos e no Canadá.

Ciliophora

Os membros do filo ***Ciliophora***, ou ciliados, possuem cílios que são similares aos flagelos, no entanto mais curtos. Os cílios são arranjados em filas precisas sobre a célula (**Figura 12.19**). Eles se movem em harmonia para propelir a célula em seu ambiente e direcionar partículas de alimento para a boca.

O único ciliado que é um parasita de humanos é o *Balantidium coli*, o agente causador de um tipo de disenteria severa, embora rara. Quando o hospedeiro ingere os cistos, eles entram no intestino delgado, onde os trofozoítos são liberados. Os trofozoítos produzem proteases e outras substâncias que destroem as células do hospedeiro. Eles alimentam-se das células e de fragmentos de tecidos do hospedeiro. Os cistos são excretados junto com as fezes.

(a) *Paramecium*

(b) *Vorticella*

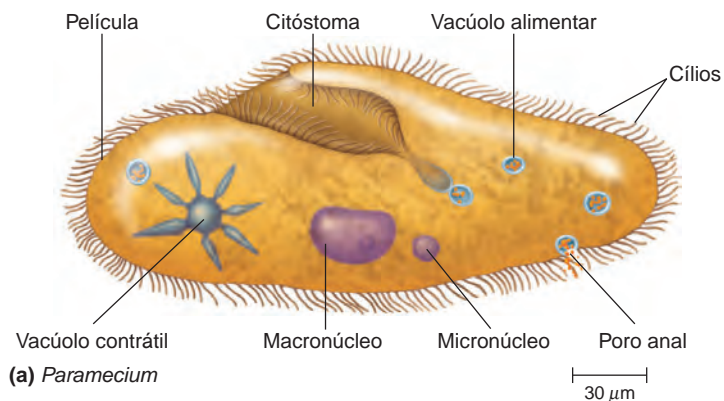



Figura 12.19 Ciliados. (a) O *Paramecium* é coberto com uma série de cílios. Eles possuem estruturas especializadas para ingestão (boca), eliminação de dejetos (poro anal) e regulação da pressão osmótica (vacúolos contráteis). O macronúcleo está envolvido com a síntese de proteínas e outras atividades celulares importantes. O micronúcleo funciona na reprodução sexuada. **(b)** A *Vorticella* fixa-se a objetos na água pela base de seu pedúnculo. O pedúnculo tipo mola pode se expandir, permitindo que a *Vorticella* se alimente em diferentes áreas. Os cílios deste organismo estão ao redor do citóstoma.

P Qual ciliado pode causar doença em humanos?

Os ciliados, os *Apicomplexa* e os dinoflagelados (página 343) podem ser colocados em seu próprio filo ou reino, chamado de **Alveolata**, pois possuem cavidades limitadas por membranas sob a superfície celular e sequências comuns de rRNA.

Euglenozoa

Dois grupos de células flageladas estão incluídos entre os ***Euglenozoa*** com base em sequências comuns de rRNA, mitocôndrias em forma de disco e ausência de reprodução sexuada.

Os **euglenoides** são fotoautotróficos (**Figura 12.20**). Eles possuem uma membrana plasmática semirrígida chamada de película

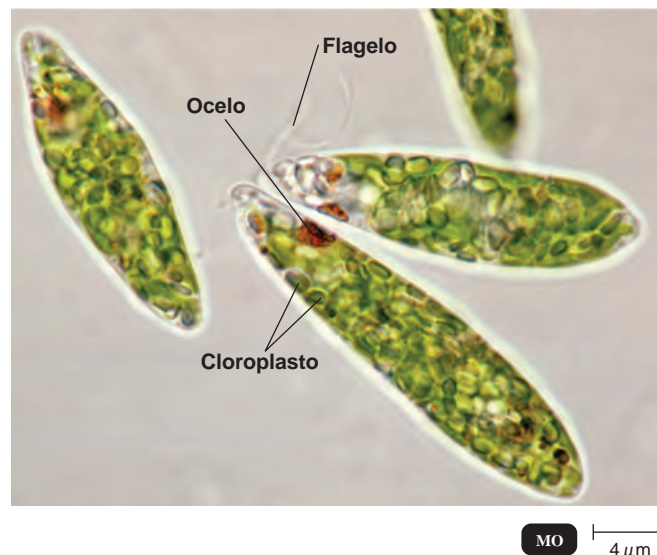
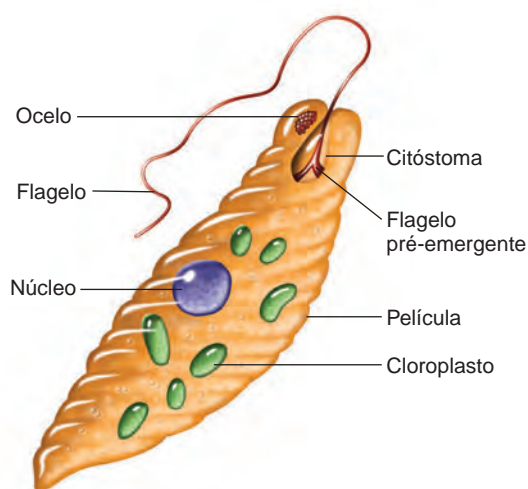



Figura 12.20 ***Euglena.*** Os euglenoides são fotoautotróficos. Anéis semirrígidos mantêm a película e permitem que a *Euglena* mude de forma.

P Por que a Euglena é classificada com os hemoflagelados?

e se movem por meio de um flagelo localizado na extremidade anterior. A maioria dos euglenoides também possui um *ocelo* vermelho na extremidade anterior. Essa organela contendo carotenoides percebe a luz e dirige a célula na direção apropriada usando um *flagelo pré-emergente*. Alguns euglenoides são quimio-heterotróficos facultativos. No escuro, eles ingerem matéria orgânica pelo citóstoma. Os euglenoides frequentemente são estudados com as algas porque podem realizar fotossíntese.

Os **hemoflagelados** (parasitas sanguíneos) são transmitidos através das picadas de insetos hematófagos e são encontrados no sistema circulatório do hospedeiro picado. Para sobreviver no fluido viscoso, os hemoflagelados possuem corpos longos e delgados e uma membrana ondulante. O gênero *Trypanosoma* inclui a espécie que causa a doença do sono africana, *T. brucei gambiense*, que é transmitida pela mosca tsé-tsé. *T. cruzi* (veja a Figura 23.22, página 661), o agente causador da doença de Chagas, é transmitido pelo barbeiro, inseto assim chamado porque pica a face (veja a Figura 12.32d, página 363). Após entrar no inseto, o tripanossoma multiplica-se rapidamente por esquizogonia. Se o inseto defeca enquanto está picando um humano, ele libera tripanossomas que podem contaminar a ferida causada pela picada.

A **Tabela 12.5** na página 354 cita alguns protozoários parasitas típicos e as doenças que eles causam.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Identifique três diferenças entre os protozoários e os animais. **12-10**
- ✓ Os protozoários possuem mitocôndrias? **12-11**
- ✓ Onde ocorre a reprodução sexuada do *Plasmodium*? **12-12**

Fungos gelatinosos

OBJETIVO DO APRENDIZADO

12-13 Comparar e diferenciar fungos gelatinosos celulares e plasmodiais.

Os **fungos gelatinosos** possuem características fúngicas e ameboides, contudo, estão mais próximos filogeneticamente das amebas e foram colocados no filo *Amoebozoa*. Existem dois táxons de fungos gelatinosos: celular e plasmodial. Os **fungos gelatinosos celulares** são células eucarióticas típicas que se assemelham a amebas. No ciclo de vida dos fungos gelatinosos celulares (**Figura 12.21**), as células ameboides vivem e crescem ingerindo fungos e bactérias por fagocitose. Os fungos gelatinosos celulares são de interesse para os biólogos que estudam agregação e migração celular, pois, quando as condições estão desfavoráveis, um grande número de células ameboides se agrega e forma uma única estrutura. Essa agregação ocorre porque alguns indivíduos ameboides produzem AMP cíclico (cAMP), para onde outras amebas migram. Algumas células ameboides formam um pedúnculo; outras aglomeram-se na extremidade do pedúnculo para formar a cobertura do esporo, e a maioria se diferencia em esporos. Quando os esporos são liberados sob condições favoráveis, eles germinam para formar amebas individuais.

Em 1973, um morador de Dallas, Estados Unidos, descobriu uma bolha vermelha pulsando em seu quintal. A mídia anunciou que uma “nova forma de vida” tinha sido encontrada. Para algumas pessoas, a “criatura” evocava recordações arrepiantes de velhos filmes de ficção científica. Antes que a imaginação fosse muito longe, os biólogos acalmaram todos os temerosos (ou os mais esperançosos). A massa amorfa era meramente um fungo gelatinoso plasmodial, eles explicaram. Porém, o tamanho incomum

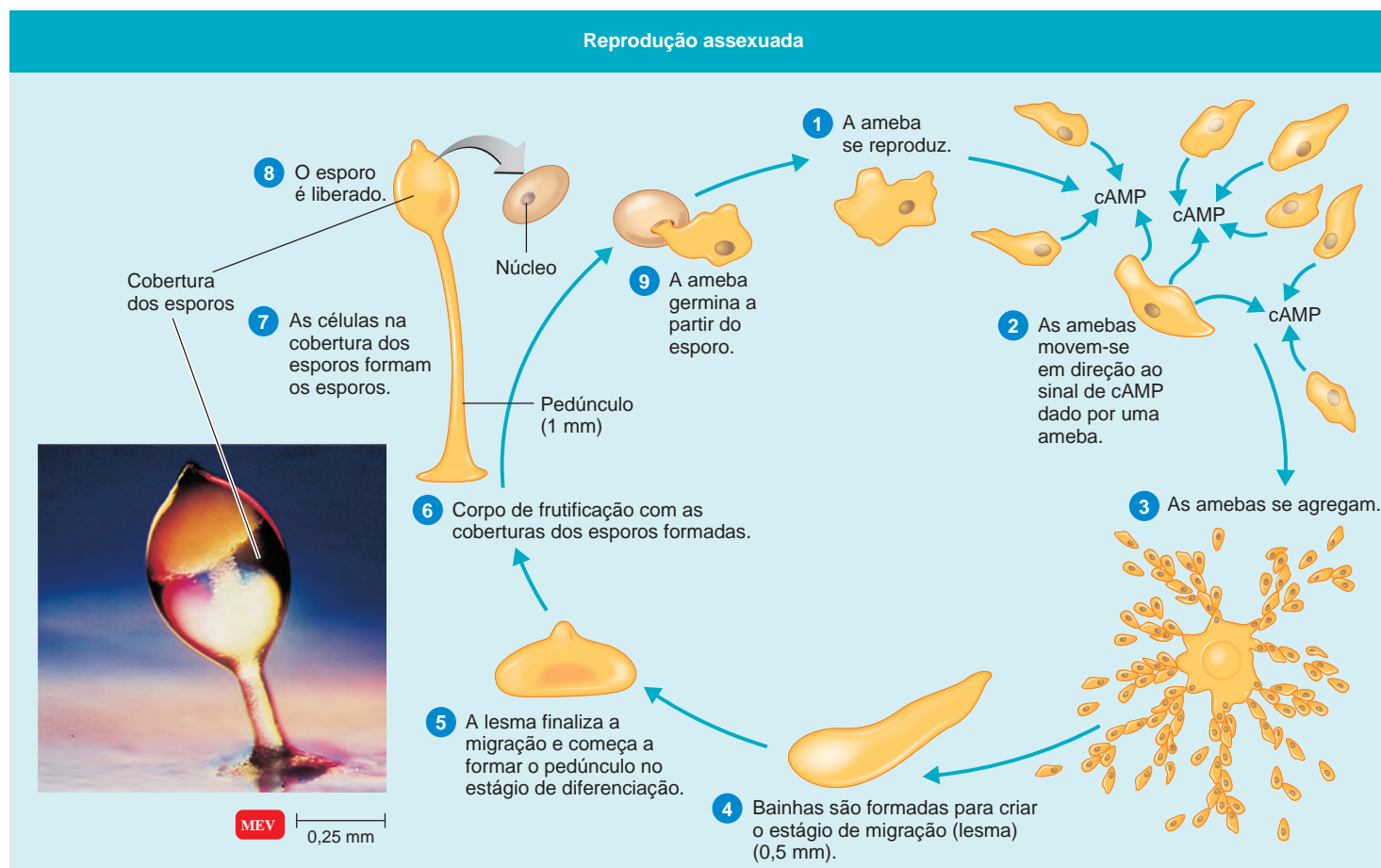



Figura 12.21 O ciclo de vida característico de um fungo gelatinoso celular. A micrografia mostra uma cobertura de esporo de *Dictyostelium*.

P Que características os fungos gelatinosos dividem com os protozoários? E com os fungos?

desse fungo gelatinoso – 46 cm de diâmetro – surpreendeu até mesmo os cientistas.

Os **fungos gelatinosos plasmodiais** foram relatados cientificamente pela primeira vez em 1729. Eles pertencem a um filo separado. Um fungo gelatinoso plasmodial existe como uma massa de protoplasma com muitos núcleos (ele é multinucleado). Essa massa de protoplasma é chamada de **plasmódio** (Figura 12.22). O plasmódio inteiro move-se como uma ameba gigante; ele engolfa detritos orgânicos e bactérias. Os biólogos descobriram que proteínas semelhantes a músculos formam microfilamentos, que são responsáveis pelos movimentos do plasmódio.

Quando os fungos gelatinosos plasmodiais são desenvolvidos em condições de laboratório, um fenômeno chamado de **fluxo citoplasmático** é observado, durante o qual o protoplasma dentro do plasmódio move-se e muda tanto de direção quanto de velocidade, de maneira que o oxigênio e os nutrientes sejam igualmente distribuídos. O plasmódio continua a crescer enquanto houver alimento e umidade suficiente para que possa prosperar.

Quando alimento e umidade estão em quantidades pequenas, o plasmódio se separa em vários grupos de protoplasmas; cada um desses grupos forma um esporângio com pedúnculo, onde os esporos haploides (uma forma de descanso e resistência dos fungos gelatinosos) se desenvolvem. Quando as condições melhoram, esses esporos germinam, fundem-se para formar células diploides, e se desenvolvem em um plasmódio multinucleado.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que os fungos gelatinosos são classificados com as amebas e não com os fungos? **12-13**

Helmintos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

12-14 Listar as características que distinguem os helmintos parasitas.

12-15 Fornecer uma razão para o elaborado ciclo de vida dos vermes parasitas.

12-16 Listar as características das duas classes de platelmintos e dar um exemplo de cada.

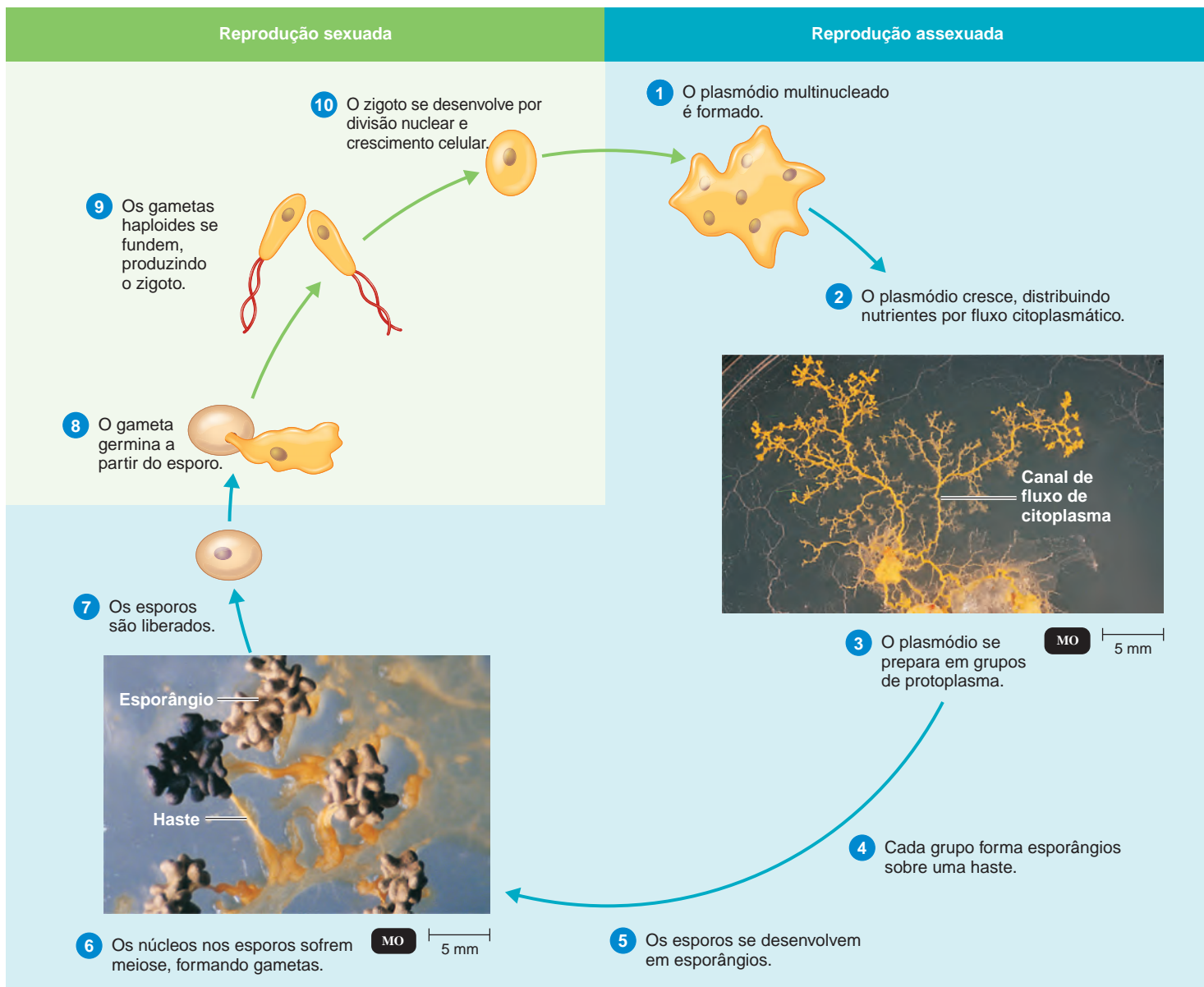



Figura 12.22 **O ciclo de vida de um fungo gelatinoso plasmodial.** Um *Physarum* é retratado nas fotomicrografias.

P Como um fungo gelatinoso celular difere de um acelular?

12-17 Descrever uma infecção parasítica na qual os humanos sejam o hospedeiro definitivo, o hospedeiro intermediário ou ambos.

12-18 Listar as características dos nematódeos parasitas e dar exemplos de ovos infectivos e larvas infectivas.

12-19 Comparar e diferenciar platelmintos e nematodas.

Muitos animais parasitas passam a vida inteira ou parte dela em humanos. A maior parte desses animais pertence a dois filos: Platelmintos (vermes achatados) e Nematoda (vermes redondos). Esses vermes são comumente chamados de **helmintos**. Existem também espécies de vida livre neste filo, mas limitaremos nossa discussão às espécies parasitas. As doenças causadas pelos vermes parasitas são discutidas na Parte Quatro.

Características dos helmintos

Os helmintos são animais eucarióticos multicelulares que geralmente possuem os sistemas digestório, circulatório, nervoso, excretor e reprodutor. Os helmintos parasitas precisam ser altamente especializados para viver no interior de seus hospedeiros. As gene-

Tabela 12.5 Alguns protozoários parasitas importantes

Filo	Patógenos humanos	Características importantes	Doenças	Fonte de infecções humanas	Referência de figura/tabela	Referência de página
Archaezoa	*Giardia lamblia*	Dois núcleos, oito flagelos	Enterite por giárdia	Contaminação fecal de água potável	25.17	730
	Trichomonas vaginalis	Sem estágio de encista-mento	Uretrite, vaginite	Contato com corrimento vaginal-uretral	Quadro 26.2	759
Microspora	*Nosema*	Desconhecida	Diarreia, ceratocon-juntivite, conjuntivite	Outros animais	-	-
Amoebozoa	*Acanthamoeba*	Pseudópodes	Queratite	Água	-	-
	Entamoeba histolytica		Disenteria amebiana	Contaminação fecal de água potável	25.19	732
	E. dispar					
	Balamuthia		Encefalite	Água	-	-
Apicomplexa	*Babesia microti*	Complexa	Babesiose	Animais domésticos, car-rapatos	-	666
	Cryptosporidium	Ciclos de vida podem exi-gir mais de um hospedeiro	Diarreia	Humanos, outros animais, água	25.18	731
	Cyclospora	-	Diarreia	Água	Quadro 25.5	734
	Plasmodium	-	Malária	Picada do mosquito *Ano-pheles*	12.18 23.25	349 664
	Toxoplasma gondii	-	Toxoplasmose	Gatos, carne bovina; con-gênito	23.23	662
Dinoflagelados	*Alexandrium* *Pfiesteria*	Fotossintéticos (veja a Ta-bela 12.4)	Paralisia por envene-namento por molus-cos; ciguatera	Ingestão de dinoflagela-dos em moluscos, peixes	27.13	779
Ciliophora	*Balantidium coli*	Somente parasitas ciliados em humanos	Disenteria balanti-diana	Contaminação fecal de água potável	–	–
Euglenozoa	*Leishmania*	Forma flagelada em flebo-tomíneos; forma ovoide em hospedeiros invertebrados;	Leishmaniose	Picada de flebotomíneo (*Phlebotomus*)	23.26	665
	Naegleria fowleri	Formas flageladas e ame-boides	Meningoencefalite	Águas recreacionais	22.17	629
	Trypanosoma cruzi	Membrana ondulante	Doença de Chagas	Picada do *Triatoma* (bar-beiro)	23.22	661
	T. brucei gambiense *T.b. rhodesiense*		Tripanossomíase afri-cana	Picada da mosca tsé-tsé	22.16	629

ralizações a seguir distinguem os helmintos parasitas de seus parentes de vida livre:

1. O sistema digestório *pode* estar ausente. Eles podem absorver nutrientes a partir dos alimentos, fluidos corporais e tecidos do hospedeiro.
2. Seu sistema nervoso é *reduzido*. Eles não necessitam de um sistema nervoso extenso, pois não precisam procurar por alimento ou reagir muito ao ambiente. O ambiente no interior de um hospedeiro é relativamente constante.
3. Seus meios de locomoção são ocasionalmente *reduzidos* ou *completamente ausentes*. Como são transferidos de hospedeiro para hospedeiro, não precisam procurar ativamente por um habitat favorável.
4. Seu sistema reprodutor muitas vezes é complexo. Um indivíduo produz um grande número de ovos, pelos quais um hospedeiro ideal é infectado.

Ciclo de vida

O ciclo de vida dos helmintos parasitas pode ser extremamente complexo, envolvendo uma sucessão de hospedeiros intermediários para a conclusão de cada estágio **larval** (de desenvolvimento) do parasita e um hospedeiro definitivo para o parasita adulto.

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

A causa mais frequente da diarreia recreacional aquática

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os microbiologistas se perguntam quando tentam diagnosticar uma doença. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. Uma menina de oito anos apresentou diarreia aquosa, vômitos ou cólicas abdominais uma semana após sua festa de aniversário.
   Quais doenças são possíveis? (*Dica*: veja a página 730.)
2. O resultado da coloração álcool-ácido resistente das fezes da menina é mostrado na **Figura A**.
   Qual é a doença?
3. Oocistos de *Cryptosporidium* são identificados por sua cor vermelha quando essa técnica de coloração é utilizada e, nesse caso, os esporozoítos são visíveis no interior do oocisto, apontado pela seta. Os oocistos são infecciosos quando imediatamente liberados nas fezes. Um acompanhamento de 12 pessoas que participaram da festa de aniversário mostrou que elas apresentaram diarreia aquosa, vômitos ou cólicas abdominais. A doença teve duração de 2 a 10 dias.
   O que mais você precisa saber?
4. A festa de aniversário foi realizada em um parque aquático comunitário.
   Como essa doença é transmitida?
5. A infecção por *Cryptosporidium* é transmitida pela rota oral-fecal e resulta da ingestão de oocisto de *Cryptosporidium* pelo consumo de água ou alimentos contaminados por fezes ou contato direto pessoa-pessoa ou animal-pessoa. A dose infectiva é baixa; estudos alimentares mostraram que a ingestão de somente 10 a 30 oocistos pode causar a infecção em pessoas saudáveis. Foi relatado que pessoas infectadas excretam 10^8 a 10^9 oocistos em uma única evacuação e liberam oocistos até 50 dias após o término da diarreia.

O *Cryptosporidium* é a causa mais frequente de surtos de gastrenterites associados a águas recreacionais, mesmo em locais com água tratada. Tornou-se uma doença notificada em 1994 (**Figura B**).

Como surtos de *Cryptosporidium* podem ser prevenidos?

As espécies de *Cryptosporidium* são conhecidas por serem resistentes à maior parte dos desinfetantes químicos, como o cloro. As recomendações para reduzir o risco de infecção incluem o seguinte:

- Não nadar durante duas semanas após sofrer de diarreia.
- Evitar engolir água de piscina.
- Lavar as mãos após o uso de banheiros ou a troca de fraldas.

Figura A Coloração álcool-ácido resistente das fezes da paciente.

Fonte: Adaptado de *MMWR* 56(29): 729-732, 27 de julho, 2007.

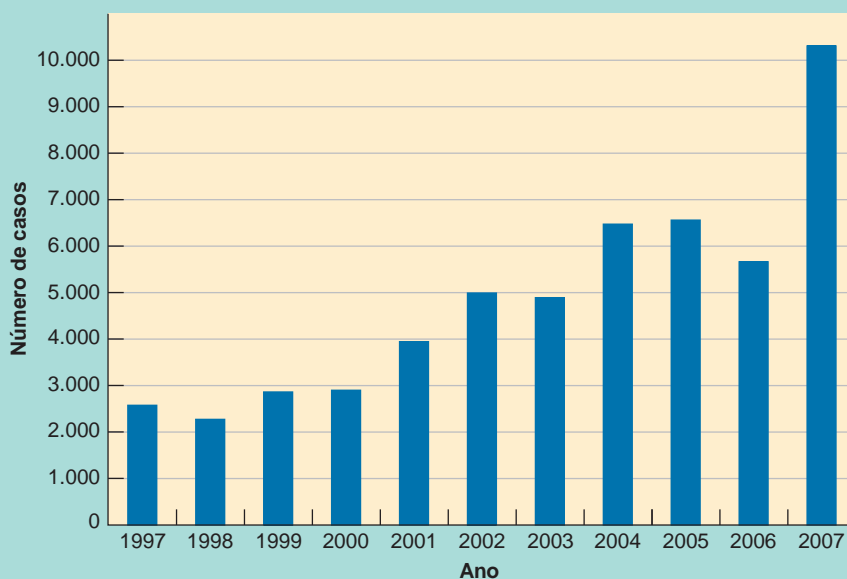



Figura B Casos notificados nos Estados Unidos.

Os helmintos adultos podem ser **dioicos**; órgãos reprodutores masculinos em um indivíduo e órgãos reprodutores femininos em outro. Nessas espécies, a reprodução ocorre somente quando dois adultos de sexos opostos estão no mesmo hospedeiro.

Os helmintos adultos também podem ser **monoicos** ou **hermafroditas** – um animal com órgãos reprodutores, masculinos e femininos. Dois hermafroditas podem copular e simultaneamente fertilizar um ao outro. Alguns tipos de hermafroditas se autofertilizam.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que as drogas utilizadas para tratar helmintos parasitas frequentemente são tóxicas ao hospedeiro? **12-14**

✓ Qual a importância do complicado ciclo de vida dos helmintos parasitas? **12-15**

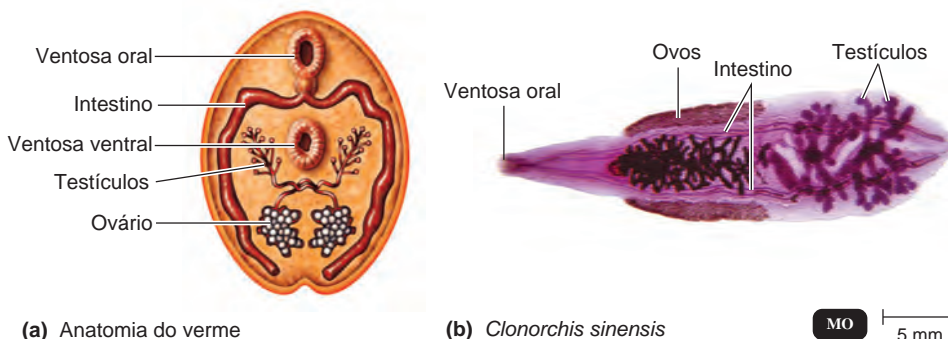
Figura 12.23 Infecção por um platelminto parasítico. Um aumento na quantidade de trematodas *Ribeiroia* nos últimos anos tem causado a ocorrência de rãs com anomalias. Rãs com múltiplos membros foram encontradas de Minnesota a Califórnia nos Estados Unidos. A cercária do trematoda infecta os girinos. As metacercárias encistadas deslocam os membros em formação, acarretando o desenvolvimento anormal das patas. O aumento no número de parasitas pode estar de acordo com o escoamento de fertilizantes, o que aumenta o número de algas que servem de alimento para os caramujos, os hospedeiros intermediários do parasita.

P Qual estágio com cauda do parasita vive em um caramujo?

Platelmintos

Os membros do filo Platelmintos, os **vermes achatados**, são achatados dorsoventralmente. As classes dos vermes achatados parasitas incluem os trematodas e os cestodas. Esses parasitas causam doenças ou distúrbios do desenvolvimento em uma variedade de animais (Figura 12.23).

Trematodas

Os trematodas frequentemente apresentam corpos achatados em forma de folha, com uma ventosa ventral e uma ventosa oral (Figura 12.24). As ventosas fixam o organismo em um local. Os trematodas obtêm alimento ao absorvê-lo através de seu revestimento externo, denominado **cutícula**. Eles recebem nomes comuns de acordo com o tecido do hospedeiro definitivo em que o adulto vive (p. ex., verme do pulmão, do fígado, do sangue). O verme do fígado da Ásia, *Clonorchis sinensis*, é ocasionalmente observado em imigrantes nos Estados Unidos, mas não pode ser transmitido porque os hospedeiros intermediários não são encontrados nesse país.

Para exemplificar o ciclo de vida de um trematoda, vamos examinar o verme do pulmão, *Paragonimus westermani*. Seus hospedeiros intermediários e, portanto, o próprio verme são encontrados no mundo inteiro, incluindo os Estados Unidos e o Canadá. O verme adulto vive nos bronquíolos dos seres humanos e de outros mamíferos e possui aproximadamente 6 mm de largura e 12 mm de comprimento. Os adultos hermafroditas liberam os ovos no interior dos brônquios. Como a saliva que contém os ovos frequentemente é engolida, os ovos em geral são excretados nas fezes do hospedeiro definitivo. Para o ciclo de vida continuar, os ovos precisam alcançar um corpo d'água. Uma série de etapas ocorre para garantir que os vermes adultos possam maturar nos pulmões de um novo hospedeiro. O ciclo de vida é mostrado na Figura 12.25.

Em um diagnóstico laboratorial, a saliva e as fezes são examinadas microscopicamente à procura de ovos do verme. A infecção é o resultado da ingestão de lagostins mal cozidos, e a doença pode ser prevenida pelo cozimento completo do lagostim.

As cercárias do verme do sangue *Schistosoma* não são ingeridas. Em vez disso, elas escavam a pele do hospedeiro humano e entram no sistema circulatório. Os adultos são encontrados em determinadas veias abdominais e pélvicas. A doença esquistossomose é um importante problema de saúde mundial; ela será discutida no Capítulo 23 (página 666).

Cestodas

Os cestodas, ou **tênias**, são parasitas intestinais. Sua estrutura é mostrada na Figura 12.26. A cabeça, ou escólex (plural: escóleces), possui ventosas para a adesão do parasita na mucosa intestinal do hospedeiro definitivo; algumas espécies também possuem pequenos ganchos para se fixarem. As tênias não ingerem os tecidos de seus hospedeiros; na verdade, elas não possuem sistema digestório. Para obter nutrientes no intestino delgado, elas absorvem o alimento através de sua cutícula. O corpo consiste em segmentos denominados **proglótides**. As proglótides

Figura 12.24 Trematodas. (a) Anatomia geral de um verme adulto, mostrado em corte transversal. As ventosas oral e ventral prendem o trematoda no hospedeiro. A boca é localizada no centro da ventosa oral. Os trematodas são hermafroditas; cada animal contém tanto testículos quanto ovários. **(b)** O verme do fígado da Ásia, *Clonorchis sinensis*. Observe o sistema digestório incompleto. Violentas infestações podem bloquear os ductos biliares no fígado.

P Por que o sistema digestório dos vermes achatados é chamado de "incompleto"?

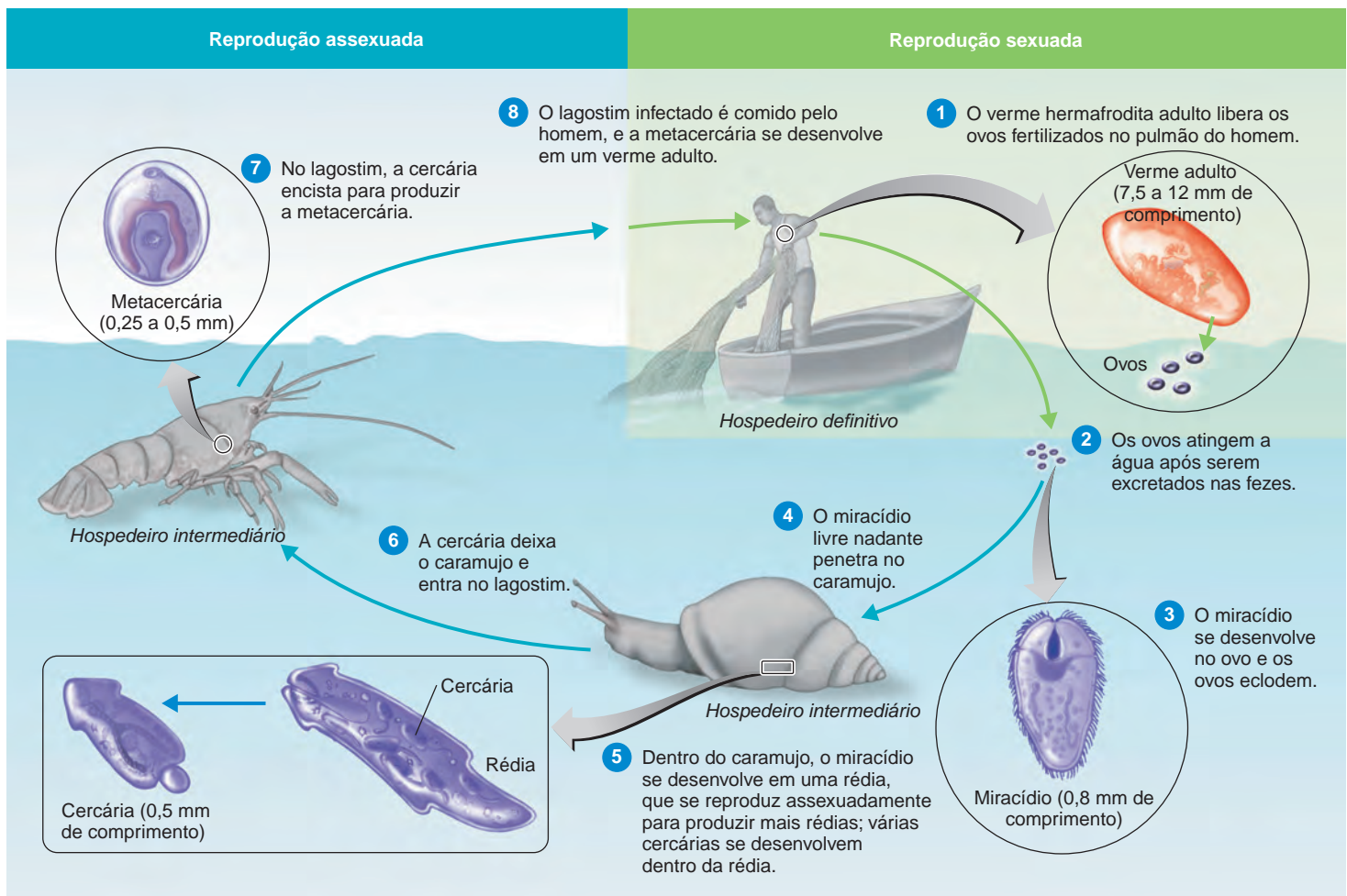



Figura 12.25 O ciclo de vida do verme do pulmão *Paragonimus westermani*. O trematoda se reproduz sexuadamente no homem e assexuadamente no caramujo, seu primeiro hospedeiro intermediário. As larvas encistam no segundo hospedeiro intermediário, um lagostim, e infectam o homem quando ingeridas. Veja também o ciclo do *Schistosoma* na Figura 23.27 (página 667).

P Qual a importância desse ciclo de vida complexo para o *Paragonimus*?

são continuamente produzidas pela região do pescoço do escólex enquanto este estiver vivo e aderido. Cada proglótide madura contém os órgãos reprodutores masculino e feminino. As proglótides maduras que contêm os ovos são as mais afastadas do escólex. As proglótides maduras são essencialmente bolsas de ovos, e cada uma delas é infectiva para o hospedeiro intermediário apropriado.

Humanos como hospedeiros definitivos. Os adultos da *Taenia saginata*, a tênia do gado, vivem em humanos e podem chegar a 6 m de comprimento. O escólex mede cerca de 2 mm de comprimento e é seguido por milhares de proglótides. As fezes de um indivíduo infectado contêm proglótides maduras, cada uma com milhares de ovos. À medida que as proglótides se movimentam em ziguezague para longe do material fecal, elas aumentam suas chances de serem ingeridas por um animal que esteja pastando. Após a ingestão pelo gado, as larvas saem dos ovos e perfuram a parede intestinal. As larvas migram para o músculo (carne), onde se encistam como **cisticercos**. Quando os cisticercos são ingeridos por uma pessoa, tudo, com exceção do escólex, é digerido. O escólex ancora-se no intestino delgado e começa a produzir proglótides.

O diagnóstico da infecção por tênia em humanos tem como base a presença de proglótides maduras e ovos nas fezes. Os cisticercos podem ser detectados macroscopicamente na carne; sua presença é referida como "carne com sarampo". A inspeção da carne de boi destinada ao consumo humano para detectar a presença de "sarampo" é uma maneira de se prevenir infecções por tênia. Outro modo de prevenção é evitar o uso de dejetos humanos sem tratamento como fertilizante em pastos.

Os seres humanos são os únicos hospedeiros definitivos conhecidos da tênia da carne de porco, *Taenia solium*. Os vermes adultos que vivem no intestino humano produzem os ovos, que são disseminados por meio das fezes. Quando os ovos são ingeridos por porcos, a larva do helminto encista nos músculos do animal; o homem se infecta quando ingere carne de porco mal

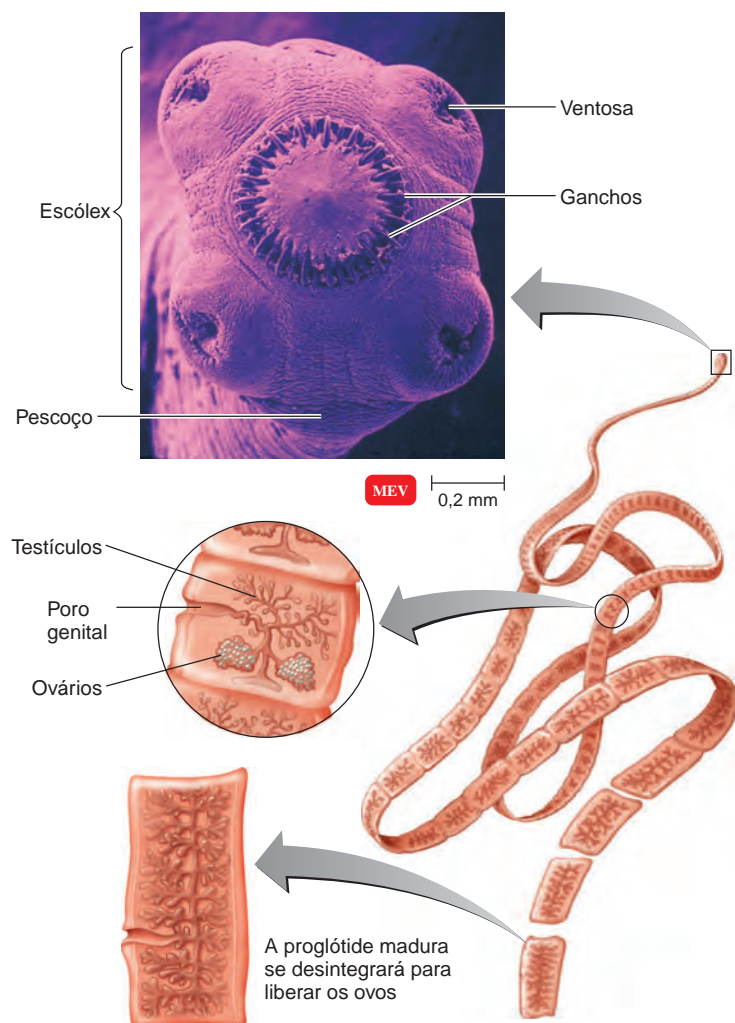



Figura 12.26 **Anatomia geral uma tênia adulta.** O escólex, mostrado na micrografia, consiste em ventosas e ganchos que se fixam aos tecidos do hospedeiro. O corpo aumenta em comprimento à medida que novas proglótides são formadas. Cada proglótide madura contém testículos e ovários.

P **Quais as semelhanças entre cestodas e tênias?**

cozida. O ciclo homem-porco-homem da *T. solium* é comum na América Latina, Ásia e África. Nos Estados Unidos, entretanto, *T. solium* praticamente não existe nos porcos; o parasita é transmitido de homem para homem. Os ovos liberados por uma pessoa e ingeridos por outra eclodem, e as larvas encistam no cérebro e em outras partes do corpo, causando a cisticercose (veja a Figura 25.22, página 733). O indivíduo infectado com as larvas de *T. solium* serve como um hospedeiro intermediário. Cerca de 7% das poucas centenas de casos notificados nos últimos anos nos Estados Unidos foram adquiridos por pessoas que nunca estiveram fora do país. Elas podem ter sido infectadas por meio do contato com pessoas que tenham nascido ou viajado para outros países.

Humanos como hospedeiros intermediários. Os humanos são os hospedeiros intermediários do *Echinococcus granulosus*, mostrado na **Figura 12.27**. Cães e coiotes são os hospedeiros definitivos dessa pequena (2 a 8 mm) tênia.

1. Os ovos são excretados com as fezes.
2. Os ovos são ingeridos por veados, ovelhas ou humanos. O homem também pode ser infectado pela contaminação das mãos com fezes de cães ou a saliva de um cão que tenha se lambido.
3. Os ovos eclodem no intestino delgado do hospedeiro humano, e as larvas migram para o fígado ou os pulmões.
4. A larva se desenvolve em um **cisto hidático**. O cisto contém "cápsulas" nas quais milhares de escóleces podem ser produzidos.
5. O hospedeiro humano representa o final do trajeto para o parasita, mas na natureza os cistos poderiam estar em um veado que poderia ser comido por um lobo.
6. Os escóleces são capazes de se aderir no intestino do lobo e produzir proglótides.

O diagnóstico de cistos hidáticos frequentemente é realizado somente em autópsias, embora o raio X seja capaz de detectá-los (veja a Figura 25.21, página 733).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Diferencie *Paragonimus* de *Taenia*. **12-16**

Nematodas

Os membros do filo Nematoda, os **vermes redondos**, são cilíndricos e afilados em cada uma das extremidades. Eles possuem um sistema digestório completo, consistindo de uma boca, um intestino e um ânus. A maior parte das espécies é dioica. Os machos são menores que as fêmeas e possuem uma ou duas **espículas** robustas em sua extremidade posterior. As espículas são usadas para guiar o esperma ao poro genital feminino.

Algumas espécies de nematodas são de vida livre no solo e na água, e outras são parasitas de plantas e animais. Alguns nematodas passam o ciclo de vida inteiro, do ovo ao adulto maduro, em um único hospedeiro.

As infecções por nematodas em humanos podem ser divididas em duas categorias: aquelas em que o ovo é infectivo e aquelas em que a larva é infectiva.

Ovos infectivos para humanos

O verme oxiúro *Enterobius vermicularis* passa a vida inteira em um hospedeiro humano (**Figura 12.28**). Os vermes oxiúros adultos são encontrados no intestino grosso. A partir desse órgão, a fêmea migra para o ânus para depositar seus ovos na região perianal. Os ovos podem ser ingeridos pelo hospedeiro ou por outra pessoa por meio de vestuário ou roupa de cama contaminados. Infecções por vermes oxiúros são diagnosticadas pelo método de fita adesiva de Graham. Um pedaço de fita adesiva transparente é colocado na região perianal, de modo que os ovos, depositados anteriormente, possam ficar colados na fita. A fita é então examinada microscopicamente para a presença dos ovos.

Ascaris lumbricoides é um nematoda grande (30 cm de comprimento) que infecta mais de um bilhão de pessoas no mundo inteiro (Figura 25.24, página 736). Trata-se de um organismo dioico que

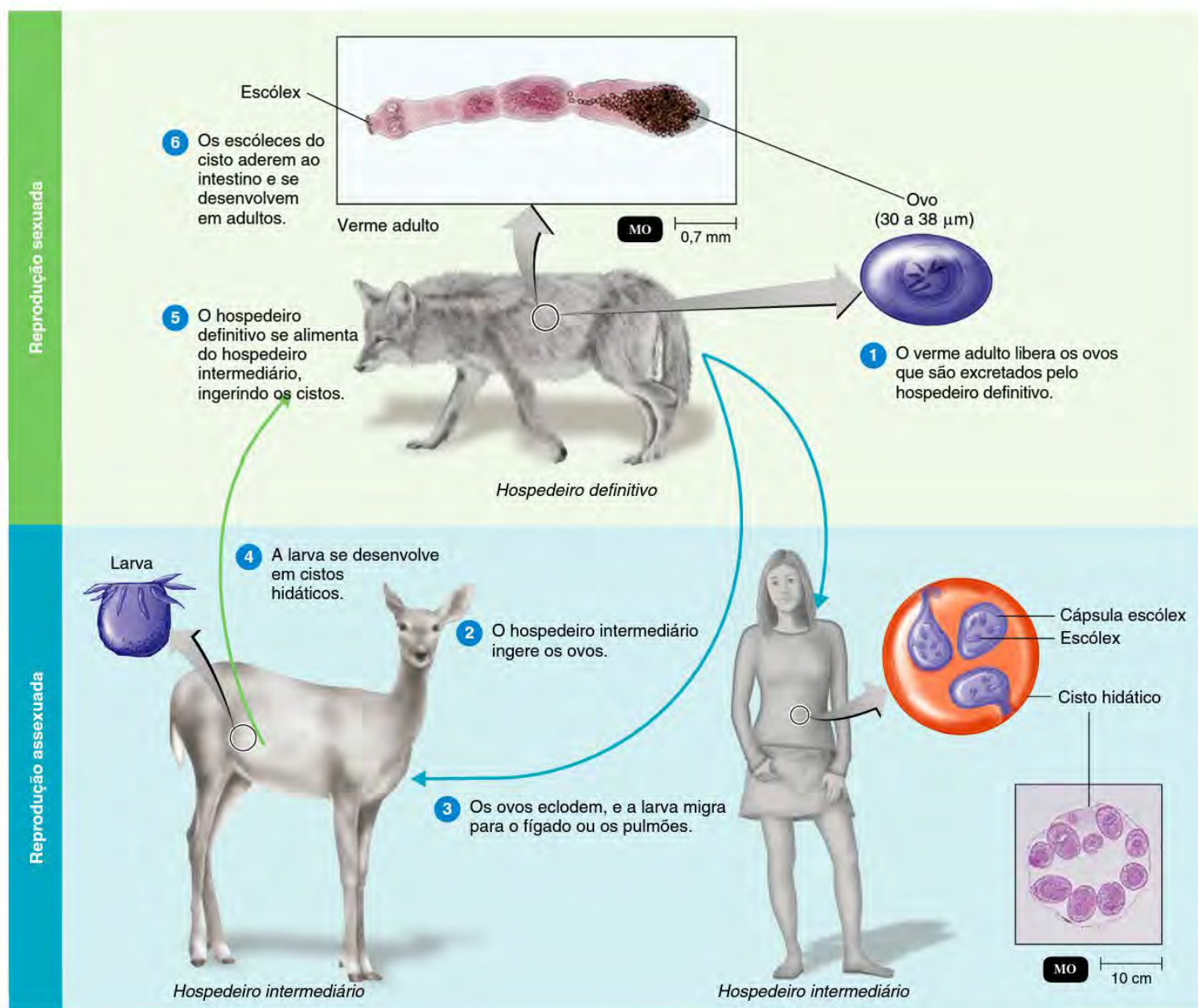



Figura 12.27 **Ciclo de vida do verme *Echinococcus granulosus*.** Este pequeno verme é encontrado no intestino de cães, lobos e raposas. O adulto da espécie mais intimamente relacionada, *Echinococcus multilocularis*. A fotomicrografia mostra um cisto hidático. O parasita pode completar seu ciclo de vida somente se o cisto for ingerido por um hospedeiro definitivo que se alimenta do hospedeiro intermediário.

P **Por que não contaminar um ser humano é um benefício para o *Echinococcus*?**

apresenta **dimorfismo sexual**, isto é, os vermes machos e fêmeas diferem na aparência, sendo o macho menor e apresentando uma cauda enrolada. O *Ascaris* adulto vive exclusivamente no intestino delgado de seres humanos, alimentando-se principalmente de comida semidigerida. Os ovos, excretados junto com as fezes, podem sobreviver no solo por longos períodos antes de serem acidentalmente ingeridos por outro hospedeiro. Os ovos eclodem no intestino delgado do hospedeiro. As larvas então escavam uma saída do intestino e entram na corrente sanguínea. Elas são carregadas até os pulmões, onde se desenvolvem. As larvas são posteriormente expelidas com a tosse e engolidas, retornando para o intestino delgado, onde os vermes tornam-se adultos.

O diagnóstico frequentemente é realizado quando os vermes adultos são excretados junto com as fezes. Os ovos do *Ascaris* podem permanecer no solo por 10 anos. As crianças são infectadas ao colocar as mãos ou brinquedos na boca. A prevenção da infecção em humanos é feita por meio de hábitos sanitários apropriados.

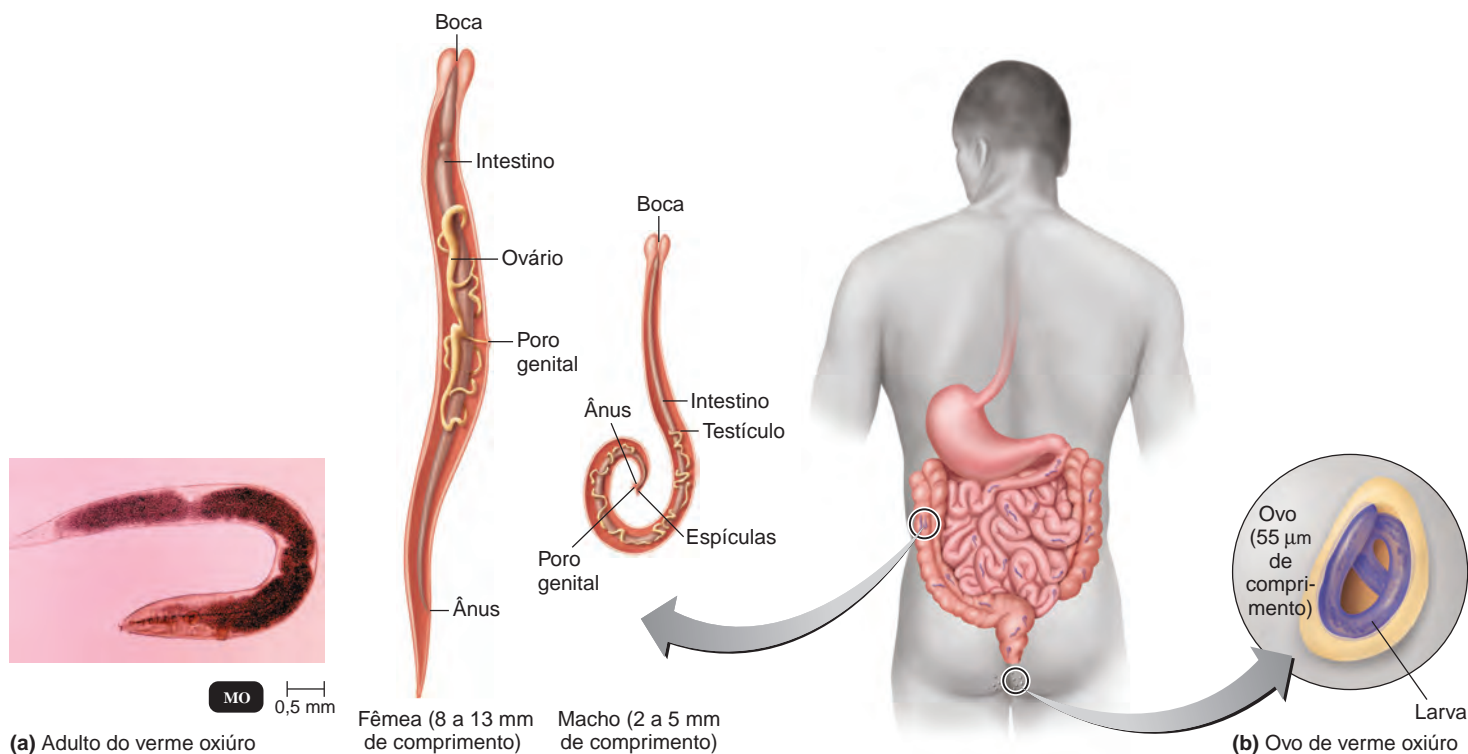



Figura 12.28 **O verme oxiúro *Enterobius vermicularis*.** **(a)** O verme oxiúro adulto vive no intestino grosso do homem. A maior parte dos vermes redondos é dioica, e a fêmea (à esquerda na fotomicrografia) é, na maioria das vezes, distintamente mais larga que o macho (direita). **(b)** Os ovos do verme oxiúro são depositados pela fêmea na região perianal, à noite.

P **Os humanos são os hospedeiros definitivos ou intermediários dos vermes oxiúros?**

Larvas infectivas para humanos

Os ancilóstomos adultos, *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*, vivem no intestino delgado de seres humanos (Figura 25.23, página 736); os ovos são excretados nas fezes. As larvas se desenvolvem no solo, onde se alimentam de bactérias. A larva entra no hospedeiro por meio da penetração na pele. Ela então entra nas veias sanguíneas ou linfáticas, sendo transportada para os pulmões. A larva é expelida com a tosse, engolida e finalmente levada para o intestino delgado. O diagnóstico tem como base a presença de ovos nas fezes. As pessoas podem evitar as infecções por ancilóstomos pelo uso de calçados.

A triquinose é causada por um nematoda que o hospedeiro adquire ao ingerir larvas sob a forma de cistos na carne mal cozida de animais infectados (veja as páginas 736 e 737). O nematoda, *Dirofilaria immitis*, é propagado de hospedeiro a hospedeiro por meio de picadas de mosquitos *Aedes*. Ele afeta principalmente cães e gatos, mas pode infectar os pulmões de seres humanos. As larvas injetadas pelo mosquito migram para vários órgãos, nos quais amadurecem e tornam-se vermes adultos. O verme parasita é denominado **verme do coração**, pois o estágio adulto frequentemente está localizado no coração do hospedeiro, podendo matá-lo por insuficiência cardíaca congestiva (**Figura 12.29**). A doença ocorre em todos os continentes exceto na Antártica. A bactéria *Wolbachia* parece ser essencial para o desenvolvimento de embriões do verme (veja o quadro no Capítulo 11, página 307).

Quatro gêneros de vermes redondos denominados *anisaquídeos*, ou vermes com movimentos em ziguezague, podem ser transmitidos ao homem por peixes e lulas infectados. As larvas anisaquídeas encontram-se nos mesentérios intestinais dos peixes e migram para o músculo quando o peixe morre. O congelamento ou completo cozimento do peixe mata as larvas.

A **Tabela 12.6** lista os helmintos parasitas representantes de cada filo e classe e as doenças que eles causam.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é o hospedeiro definitivo para o *Enterobius*? **12-17**

✓ Qual estágio da *Dirofilaria immitis* é infectante para cães e gatos? **12-18**

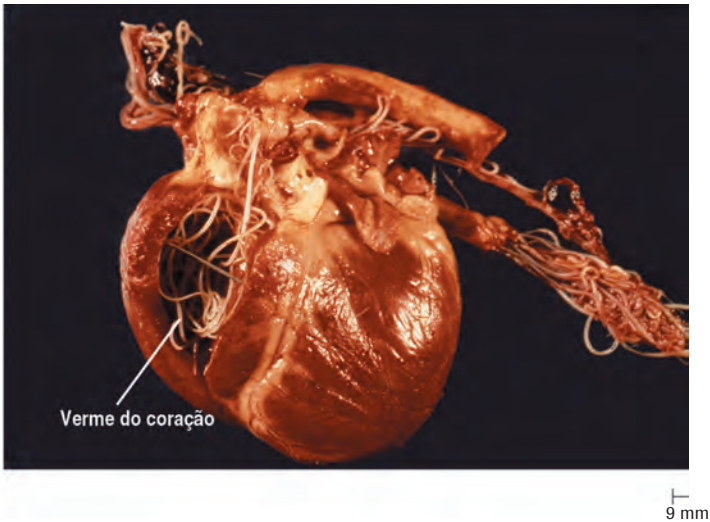



Figura 12.29 **O verme do coração *Dirofilaria immitis*.** Quatro adultos de *D. immitis* no ventrículo direito do coração de um cão. Cada verme possui 12 a 30 centímetros de comprimento.

P **Em que os vermes redondos e os vermes achatados diferem?**

✓ Você encontra um verme parasita na fralda de um bebê. Como poderia saber se é uma *Taenia* ou um *Necator*? **12-19**

Artrópodes como vetores

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

12-20 Definir artrópode vetor.

12-21 Diferenciar um carrapato de um mosquito e identificar uma doença transmitida por cada um.

Os artrópodes são animais caracterizados por possuir corpos segmentados, esqueletos externos rígidos e patas articuladas. Com aproximadamente um milhão de espécies, esse é o maior filo do reino animal. Embora não sejam micróbios, descreveremos os artrópodes brevemente, pois alguns sugam sangue de seres humanos e de outros animais e podem transmitir doenças microbianas durante esse processo. Os artrópodes que transportam micro-organismos patogênicos são chamados de **vetores**. A sarna e a pediculose são doenças causadas por artrópodes (veja o Capítulo 21, páginas 602 e 603).

Classes representantes de artrópodes incluem:

Tabela 12.6 **Representantes dos helmintos parasitas**

Filo	Classe	Parasitas humanos	Hospedeiro intermediário	Sítio no hospedeiro definitivo	Estágio de transmissão a humanos; métodos	Doença	Localização em humanos	Figura de referência
Platelmintos	Trematodas	*Paragonimus westermani*	Caramujos de água doce e lagostim	Humanos; pulmões	Metacercária no lagostim; ingestão	Paragonimíase (verme do pulmão)	Pulmões	12.25
		Schistosoma	Caramujos de água doce	Humanos	Cercárias; penetração na pele	Esquistossomose	Veias	23.27 23.28
	Cestodas	*Taenia saginata*	Gado	Humanos; intestino delgado	Cisticercos na carne de gado; ingestão	Teníase	Intestino delgado	-
		Taenia solium	Humanos; suínos	Humanos	Ovos; ingestão	Neurocisticercose	Cérebro; qualquer tecido	25.22
		Echinococcus granulosus	Humanos	Cães e outros animais; intestinos	Ovos de outros animais; ingestão	Hidatidose	Pulmões, fígado e cérebro	12.27; 25.23
Nematoda		*Ascaris lumbricoides*	-	Humanos; intestino delgado	Ovos; ingestão	Ascaridíase	Intestino delgado	25.25
		Enterobius vermicularis	-	Humanos; intestino grosso	Ovos; ingestão	Oxiuríase	Intestino grosso	12.28
		Necator americanus	-	Humanos; intestino delgado	Larvas; penetração na pele	Ancilostomíase	Intestino delgado	25.24
		Ancylostoma duodenale	-	Humanos; intestino delgado	Larvas; penetração na pele	Ancilostomíase	Intestino delgado	25.24
		Trichinella spiralis	-	Humanos, suínos e outros mamíferos; intestino delgado	Larvas; ingestão	Triquinose	Músculos	25.26
		Anisaquídeos	Peixes marinhos e lula	Mamíferos marinhos	Larvas em peixes; ingestão	Anisaquíase (vermes do sashimi)	Trato gastrintestinal	-

Tabela 12.7 Artrópodes importantes como vetores para doenças humanas

Classe	Ordem	Vetor	Doença	Figura de referência
Arachnida	Ácaros e carrapatos	*Dermacentor* (carrapato)	Febre maculosa das Montanhas Rochosas	–
		Ixodes (carrapato)	Doença de Lyme, babesiose, erliquiose	12.31
		Ornithodorus (carrapato)	Febre recorrente	–
Insecta	Piolhos	*Pediculus* (piolho de humanos)	Tifo epidêmico, febre recorrente	12.32a
	Pulgas	*Xenopsylla* (pulga de rato)	Tifo murino endêmico, praga	12.32b
	Moscas	*Chrysops* (mosca de veado)	Tularemia	12.32c
		Aedes (mosquito)	Dengue, febre amarela, verme do coração	12.29
		Anopheles (mosquito)	Malária	12.30
		Culex (mosquito)	Encefalite arboviral	–
		Glossina (mosca tsé-tsé)	Tripanossomíase africana	–
	Insetos sugadores	*Triatoma* (barbeiro)	Doença de Chagas	12.32d

- Aracnídea (oito patas): aranhas, ácaros, carrapatos.
- Crustácea (quatro antenas): caranguejos, lagostim.
- Insecta (seis patas): abelhas, moscas, piolhos.

A **Tabela 12.7** lista os artrópodes que são vetores importantes e as **Figuras 12.30**, **12.31** e **12.32** ilustram alguns deles. Esses insetos e carrapatos residem em animais somente quando estão se alimentando. Uma exceção a essa regra é o piolho, que passa a vida inteira em seus hospedeiros e não pode sobreviver por muito tempo longe deles.

Alguns vetores são apenas mecanismos de transporte para patógenos. Por exemplo, as moscas domésticas depositam seus ovos em matéria orgânica em decomposição, como fezes. Durante esse processo, a mosca pode captar um patógeno em suas patas ou corpo e transportá-lo para nossos alimentos.

Alguns parasitas multiplicam-se em seus vetores. Quando isso acontece, os parasitas podem se acumular nas fezes ou na saliva do vetor. Um grande número de parasitas pode então ser depositado no hospedeiro enquanto o vetor estiver se alimentando. A espiroqueta que causa a doença de Lyme é transmitida por carrapatos dessa maneira (veja o Capítulo 23, página 651), e o vírus do Oeste do Nilo é transmitido da mesma forma por mosquitos (veja o Capítulo 22, página 626).

Conforme discutido anteriormente, o *Plasmodium* é um exemplo de parasita que necessita que seu vetor também seja o hospedeiro definitivo. O *Plasmodium* pode reproduzir-se sexuadamente somente no intestino de um mosquito *Anopheles*. O *Plasmodium* é introduzido no interior de um hospedeiro humano junto com a

Figura 12.30 Mosquito. Uma fêmea de mosquito sugando o sangue da pele humana. Os mosquitos transmitem vários patógenos de pessoa a pessoa, incluindo os vírus da febre amarela e do Oeste do Nilo.

P Quando um vetor também é um hospedeiro definitivo?

MO 1 mm

Figura 12.31 Carrapato. *Ixodes pacificus* é o vetor da doença de Lyme na costa oeste dos Estados Unidos.

P Por que os carrapatos não são classificados como insetos?

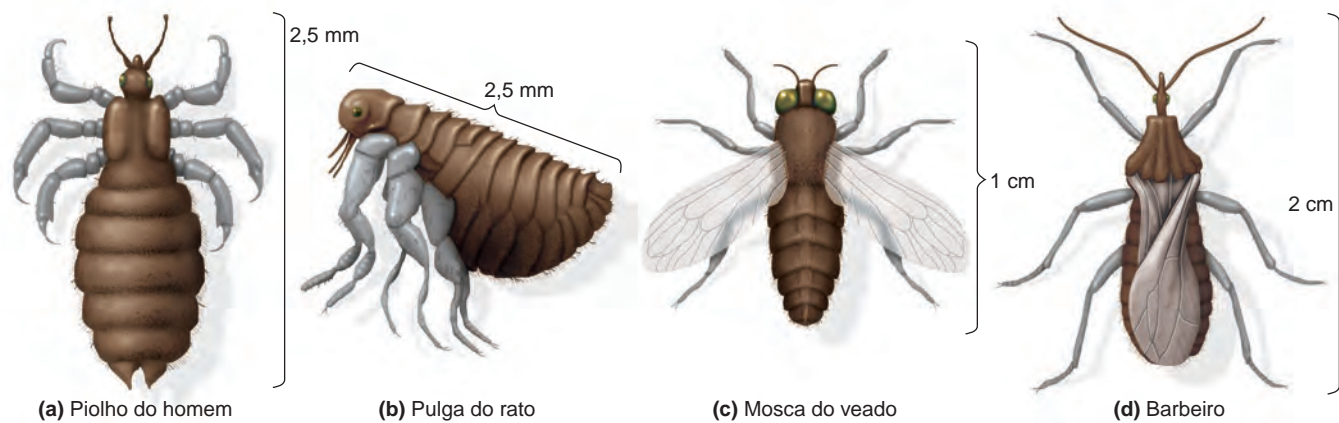



Figura 12.32 **Artrópodes vetores.** **(a)** O piolho do homem, *Pediculus*. **(b)** A pulga do rato, *Xenopsylla*. **(c)** A mosca do veado, *Chrysops*. **(d)** O barbeiro, *Triatoma*.

P **Dê o nome de um patógeno transportado por cada um desses vetores.**

saliva do mosquito, que atua como um anticoagulante, mantendo o fluxo sanguíneo.

Para eliminar doenças transmitidas por vetores (como a tripanossomíase africana), os programas de saúde focalizam a erradicação dos vetores.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Os vetores podem ser divididos em três principais tipos, de acordo com os papéis que desempenham para o parasita. Liste os três tipos de vetores e a doença transmitida por cada um. **12-20**

✓ Suponha que você tenha visto um artrópode em seu braço. Como você pode determinar se ele é um carrapato ou uma pulga? **12-21**

RESUMO PARA ESTUDO

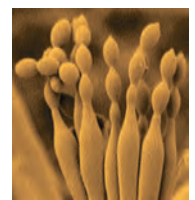
Fungos (p. 330-339)

1. Micologia é o estudo dos fungos.
2. O número de infecções fúngicas graves está aumentando.
3. Os fungos são aeróbicos ou anaeróbicos facultativos quimio-heterotróficos.
4. A maioria dos fungos é decompositora; alguns são parasitas de plantas e animais.

Características dos fungos (p. 331-333)

5. O talo de um fungo consiste em filamentos de células denominados hifas; uma massa de hifas é chamada de micélio.
6. Leveduras são fungos unicelulares. Para se reproduzir, as leveduras que realizam fissão se dividem simetricamente, enquanto as leveduras que realizam brotamento dividem-se assimetricamente.
7. Os brotos que não se separam da célula parental formam pseudo-hifas.
8. Os fungos dimórficos patogênicos são leveduriformes a 37°C e filamentosos a 25°C.
9. Os fungos são classificados de acordo com o rRNA.
10. Esporangiósporos e conidiósporos são produzidos assexuadamente.
11. Esporos sexuais geralmente são produzidos em resposta a circunstâncias especiais, muitas vezes durante mudanças ambientais.
12. Os fungos são capazes de crescer em ambientes ácidos, com pouca umidade e aeróbicos.
13. Eles são capazes de metabolizar carboidratos complexos.

Filos de fungos de importância médica (p. 333-335)

14. Os zigomicetos possuem hifas cenocíticas e produzem esporangiósporos e zigósporos.
15. Os ascomicetos possuem hifas septadas e produzem ascósporos e frequentemente conidiósporos.
16. Os basidiomicetos possuem hifas septadas e produzem basidiósporos; alguns produzem conidiósporos.
17. Os fungos teleomórficos produzem esporos sexuais e assexuais; fungos anamórficos produzem somente esporos assexuais.

Doenças causadas por fungos (p. 335-339)

18. Micoses sistêmicas são infecções fúngicas quem afetam muitos tecidos e órgãos.
19. As micoses subcutâneas são infecções fúngicas que ocorrem abaixo da pele.
20. Micoses cutâneas afetam tecidos contendo queratina, como cabelo, unhas e pele.
21. Micoses superficiais são localizadas nos fios de cabelo e nas células superficiais da pele.

22. Micoses oportunistas são causadas por fungos que normalmente não são patogênicos.
23. Micoses oportunistas podem infectar qualquer tecido. No entanto, geralmente são sistêmicas.

Efeitos econômicos dos fungos (p. 339)

24. *Saccharomyces* e *Trichoderma* são utilizados na produção de alimentos.
25. Fungos são utilizados para controle biológico de pragas.
26. A deterioração causada por fungos em frutas, grãos e vegetais é mais comum que a deterioração desses produtos causada por bactérias.
27. Muitos fungos causam doenças em plantas.

Liquens (p. 339, 340)

1. Um líquen é uma associação mutualística entre uma alga (ou cianobactéria) e um fungo.
2. O processo de fotossíntese realizado pela alga fornece carboidratos para os liquens; o fungo fornece um suporte.
3. Os liquens colonizam habitats que são inadequados para o crescimento individual das algas ou dos fungos.
4. Os liquens podem ser classificados com base em sua morfologia como crustosos, foliosos ou fruticosos.

Algas (p. 340-345)

1. As algas são unicelulares, filamentosas ou multicelulares (talos).
2. A maioria das algas vive em ambientes aquáticos.

Características das algas (p. 341, 342)

3. As algas são eucarióticas, e a maioria é fotoautotrófica.
4. O talo das algas multicelulares geralmente consiste em uma haste, uma estrutura de fixação e lâminas folhosas.
5. As algas se reproduzem assexuadamente por divisão celular e fragmentação.
6. Muitas algas se reproduzem sexuadamente.
7. Algas fotoautotróficas produzem oxigênio.
8. As algas são classificadas de acordo com suas estruturas e pigmentos.

Filos selecionados das algas (p. 342-344)

9. As algas marrons podem ser coletadas para extração da algina.
10. As algas vermelhas crescem em regiões mais profundas do oceano em comparação com outras algas.
11. As algas verdes possuem celulose e clorofila *a* e *b* e reserva de amido.
12. As diatomáceas são unicelulares e possuem parede celular de pectina e sílica; algumas produzem neurotoxina.
13. Os dinoflagelados produzem neurotoxinas que causam envenenamento paralítico por moluscos e ciguatera.
14. Os oomicetos são heterotróficos; eles incluem decompositores e patógenos.

O papel das algas na natureza (p. 344, 345)

15. As algas são os produtores primários na cadeia alimentar aquática.
16. As algas planctônicas produzem a maioria do oxigênio molecular da atmosfera terrestre.
17. O petróleo representa os restos fósseis de algas planctônicas.
18. Algas unicelulares são simbiontes em animais como *Tridacna*.

Protozoários (p. 345-351)

1. Os protozoários são unicelulares, eucarióticos e quimio-heterotróficos.
2. Os protozoários são encontrados no solo e na água e como parte da microbiota normal de animais.

Características dos protozoários (p. 346)

3. A forma vegetativa é chamada de trofozoíto.
4. A reprodução assexuada é por fissão, brotamento ou esquizogonia.
5. A reprodução sexuada é por conjugação.
6. Durante a conjugação ciliada, dois núcleos haploides se fundem para produzir o zigoto.
7. Alguns protozoários podem produzir um cisto para proteção durante condições ambientais adversas.
8. Os protozoários possuem células complexas com uma película, um cistóstoma e um poro anal.

Filos de protozoários de importância médica (p. 346-351)

9. Os *Archaezoa* não possuem mitocôndrias, mas possuem flagelos; esse filo inclui os gêneros *Trichomonas* e *Giardia*.
10. Os *microsporídios* não possuem mitocôndrias e microtúbulos; os microsporídios causam diarreia em pacientes com Aids.
11. Os *Amoebozoa* são as amebas; eles incluem os gêneros *Entamoeba* e *Acanthamoeba*.
12. Os *Apicomplexa* possuem organelas apicais para penetrar no tecido do hospedeiro; eles incluem os gêneros *Plasmodium* e *Cryptosporidium*.
13. Os *Ciliophora* se locomovem por meio de cílios; *Balantidium coli* é o ciliado parasita de humanos.
14. Os *Euglenozoa* movimentam-se por meio do batimento dos flagelos e não ocorre reprodução sexuada; eles incluem o gênero *Trypanosoma*.

Fungos gelatinosos (p. 351, 352)

1. Os fungos gelatinosos celulares assemelham-se a amebas e ingerem bactérias por fagocitose.
2. Os fungos gelatinosos plasmodiais consistem em uma massa multinucleada de protoplasma que engolfa restos orgânicos e bactérias à medida que eles se movem.

Helmintos (p. 352-361)

1. Os vermes achatados parasitas pertencem ao filo Platelmintos.
2. Os vermes redondos parasitas pertencem ao filo Nematoda.

Características dos helmintos (p. 353-355)

3. Os helmintos são animais multicelulares; alguns são parasitas de humanos.
4. A anatomia e o ciclo de vida dos helmintos parasitas são modificados para o parasitismo.
5. O estágio adulto de um helminto parasita é encontrado no hospedeiro definitivo.
6. Cada estágio larval de um helminto parasita requer um hospedeiro intermediário.
7. Os helmintos podem ser monoicos ou dioicos.

Platelmintos (p. 356-358)

8. Os platelmintos são animais achatados dorsoventralmente; os platelmintos parasitas podem não apresentar sistema digestório.
9. Os trematodas adultos possuem uma ventosa oral e uma ventosa ventral, com as quais eles se aderem aos tecidos do hospedeiro.
10. Os ovos de trematodas eclodem em miracídios livres nadantes, que entram no primeiro hospedeiro intermediário; duas gerações de rédias se desenvolvem; as rédias tornam-se cercárias, que saem do primeiro hospedeiro e penetram no segundo hospedeiro intermediário; as cercárias encistam na forma de metacercárias; as metacercárias se desenvolvem em vermes adultos no hospedeiro definitivo.
11. Um cestoda, ou tênia, consiste em um escólex (cabeça) e proglótides.
12. Os humanos servem como hospedeiros definitivos para a tênia da carne de boi, e o gado é o hospedeiro intermediário.
13. O homem serve como hospedeiro definitivo e pode ser um hospedeiro intermediário para a tênia do porco.

14. O homem serve como hospedeiro intermediário para o *Echinococcus granulosus*; os hospedeiros definitivos são cães, lobos e raposas.

Nematodas (p. 358-361)

15. Os vermes redondos possuem um sistema digestório completo.
16. Os nematodas que infectam os humanos com seus ovos incluem os vermes oxiúros e *Ascaris*.
17. Os nematodas que infectam os humanos com suas larvas incluem os ancilóstomos e *Trichinella*.

Artrópodes como vetores (p. 361-363)

1. Animais providos de patas articuladas, como carrapatos e insetos, pertencem ao filo dos Artrópodes.
2. Os artrópodes que podem carregar doenças são chamados de vetores.
3. Doenças transmitidas por vetores são eliminadas de maneira mais eficiente por meio do controle ou a erradicação dos vetores.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

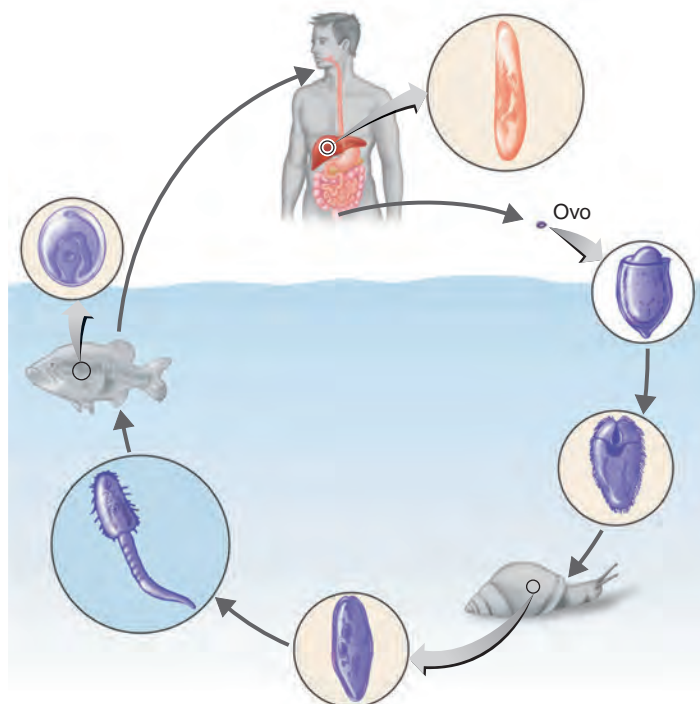
Revisão

1. A seguir, há uma lista de fungos, seus modos de entrada no corpo e os sítios das infecções que eles causam. Categorize cada tipo de micose como cutânea, oportunista, subcutânea, superficial ou sistêmica.

Gênero	Modo de entrada	Sítio de infecção	Micose
Blastomyces	Inalação	Pulmões	(a)________
Sporothrix	Punção	Lesões ulcerativas	(b)________
Microsporum	Contato	Unhas das mãos	(c)________
Trichosporon	Contato	Fios de cabelo	(d)________
Aspergillus	Inalação	Pulmões	(e)________

2. Uma mistura de culturas de *Escherichia coli* e *Penicilium chrysogenum* é inoculada sobre os seguintes meios de cultura. Em qual meio você espera que cada um cresça? Por quê?
   a. 0,5% de peptona em água de torneira.
   b. 10% de glicose em água de torneira.
3. Discuta brevemente a importância dos liquens na natureza. Discuta brevemente a importância das algas na natureza.
4. Diferencie fungo gelatinoso celular e plasmodial. Como cada um consegue sobreviver em condições ambientais adversas?
5. Complete a tabela a seguir:

Filo	Modo de locomoção	Um parasita humano
Archaezoa	(a)_________	(b)_________
Microspora	(c)_________	(d)_________
Amoebozoa	(e)_________	(f)_________
Apicomplexa	(g)_________	(h)_________
Ciliophora	(i)_________	(j)_________
Euglenozoa	(k)_________	(l)_________

6. Por que é importante que o *Trichomonas* não possua um estágio em forma de cisto? Nomeie um protozoário parasita que possua um estágio em forma de cisto.
7. De quais maneiras os helmintos parasitas são transmitidos aos seres humanos?
8. **DESENHE** Um ciclo de vida generalizado do verme do pulmão *Clonorchis sinensis* é mostrado abaixo. Indique os estágios do verme. Identifique o(s) hospedeiro(s) intermediário(s). Identifique o(s) hospedeiro(s) definitivo(s). A qual filo e classe esse animal pertence?

9. A maioria dos nematodas é dioica. O que esse termo significa? A qual filo os nematodas pertencem?

Múltipla escolha

1. Quantos filos estão representados na seguinte lista de organismos: *Echinococcus, Cyclospora, Aspergillus, Taenia, Toxoplasma, Trichinella*?
   a. 1 **b.** 2 **c.** 3 **d.** 4 **e.** 5

Utilize as seguintes opções para responder as questões 2 e 3:

(1) Metacercária.
(2) Rédia.
(3) Adulto.
(4) Miracídio.
(5) Cercaria.

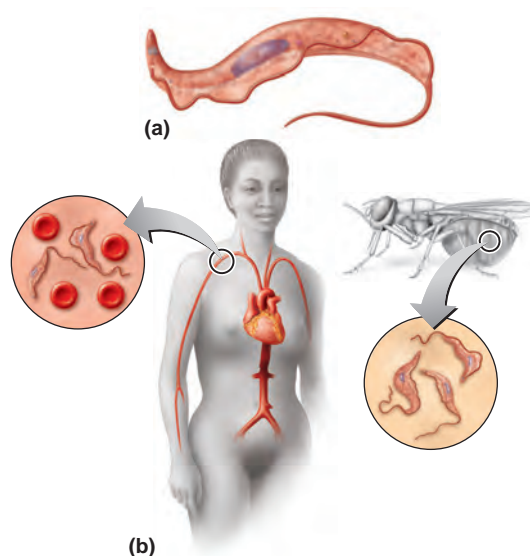
2. Coloque os estágios abaixo em ordem de desenvolvimento, iniciando pelo ovo.
   a. 5, 4, 1, 2, 3. **d.** 3, 4, 5, 1, 2.
   b. 4, 2, 5, 1, 3. **e.** 2, 4, 5, 1, 3.
   c. 2, 5, 4, 3, 1.
3. Se um caramujo é o primeiro hospedeiro intermediário de um parasita com estes estágios, qual estágio será encontrado no caramujo?
   a. 1 **b.** 2 **c.** 3 **d.** 4 **e.** 5
4. Quais das seguintes afirmativas a respeito das leveduras são verdadeiras?
   (1) As leveduras são fungos.
   (2) As leveduras podem formar pseudo-hifas.
   (3) As leveduras reproduzem-se assexuadamente por brotamento.
   (4) As leveduras são anaeróbicas facultativas.
   (5) Todas as leveduras são patogênicas.
   (6) Todas as leveduras são dimórficas.
   a. 1, 2, 3, 4. **d.** 1, 3, 5, 6.
   b. 3, 4, 5, 6. **e.** 2, 3, 4.
   c. 2, 3, 4, 5.
5. Qual dos seguintes eventos segue a fusão celular em um ascomiceto?
   a. Formação do conidióforo.
   b. Germinação do conidiósporo.
   c. Abertura do asco.
   d. Formação do ascósporo.
   e. Liberação do conidiósporo.
6. O hospedeiro definitivo do *Plasmodium vivax* é:
   a. Humano. **c.** Um esporócito.
   b. *Anopheles.* **d.** Um gametócito.
7. As pulgas são o hospedeiro intermediário da tênia *Diplydium caninum*, e os cães são o hospedeiro definitivo. Qual estágio do parasita pode ser encontrado na pulga?
   a. Larva cisticercoide. **c.** Escólex.
   b. Proglótide. **d.** Adulto.

Utilize as seguintes alternativas para responder as questões 8 a 10:

a. *Apicomplexa*. **c.** Dinoflagelados.
b. *Ciliophora*. **d.** *Microspora*.

8. Esses são parasitas intracelulares obrigatórios que não possuem mitocôndrias.
9. Esses são parasitas sem motilidade com organelas especiais para penetração no tecido do hospedeiro.
10. Esses organismos fotossintéticos podem causar paralisia por envenenamento de moluscos.

Pensamento crítico

1. O tamanho da célula é limitado por sua razão superfície/volume; isto é, se o volume torna-se muito grande, o calor interno não pode ser dissipado e os nutrientes e resíduos não podem ser transportados de maneira eficiente. Como os fungos plasmodiais conseguem contornar a regra de superfície/volume?
2. O ciclo de vida do verme *Diphyllobothrium* do peixe é similar ao da *Taenia saginata*, exceto que o hospedeiro intermediário é o peixe. Descreva o ciclo de vida e o modo de transmissão para o homem. Por que é mais provável que peixes de água doce sejam fonte de infecção por tênias do que peixes marinhos?
3. *Trypanosoma brucei gambiense* – parte (a) na figura a seguir – é o agente causador da tripanossomíase africana (doença do sono africana). A qual filo ele pertence? A parte (b) mostra um ciclo de vida simplificado para *T. b. gambiense*. Identifique o hospedeiro e o vetor desse parasita.

Aplicações clínicas

1. Uma menina desenvolveu complicações generalizadas. Um exame de TC revelou uma lesão simples no cérebro consistente com um tumor. A biópsia da lesão mostrou um cisticerco. A paciente vive na Carolina do Sul, nos Estados Unidos, e nunca viajou para fora do estado. Que parasita causou essa doença? Como a doença é transmitida? Como ela pode ser prevenida?
2. Um fazendeiro na Califórnia, nos Estados Unidos, desenvolveu uma febre baixa, mialgia e tosse. Um exame de raio X do tórax revelou um infiltrado no pulmão. O exame microscópico do escarro revelou células redondas em brotamento. Na cultura do escarro cresceram micélios e artroconídios. Qual é o mais provável organismo causador dos sintomas? O que está causando a doença no homem? Como essa doença é transmitida? Como ela pode ser prevenida?
3. Um adolescente na Califórnia reclamou de febre persistente, calafrios e dores de cabeça. Uma amostra de sangue revelou células em forma de anel no interior das hemácias. Ele foi tratado com sucesso com primaquina e cloroquina. O paciente vive perto do Rio San Luis Rey e não possui história de viagens ao exterior, transfusão sanguínea ou uso de drogas intravenosas. Que doença é esta? Como foi adquirida?

13 Vírus, Viroides e Prions

Os vírus são muito pequenos para serem vistos ao microscópio óptico e não se multiplicam fora de suas células hospedeiras. Por isso, embora as doenças causadas por vírus não sejam uma novidade, as partículas virais não puderam ser estudadas até o século XX. Em 1886, o químico holandês Adolf Mayer demonstrou que a doença do mosaico do tabaco (DMT) era transmissível de uma planta doente para uma planta sadia. Em 1892, em uma tentativa de isolar a causa da DMT, o bacteriologista russo Dimitri Iwanowiski filtrou a seiva de plantas doentes em filtros de porcelana construídos para reter bactérias. Ele esperava encontrar o micróbio preso ao filtro. Ao contrário, constatou que o agente infeccioso havia passado através dos diminutos poros do filtro. Quando ele injetou o fluido filtrado em plantas sadias, elas contraíram a doença. A primeira doença humana associada com um agente filtrável foi a febre amarela.

Os avanços nas técnicas de biologia molecular nos anos de 1980 e 1990 permitiram a identificação de vários novos vírus, incluindo o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o coronavírus associado à sindrome respiratória aguda severa (SARS). O vírus israelense da paralisia aguda tornou-se uma preocupação em 2006, quando dizimou cerca de 90% das abelhas polinizadoras em algumas colmeias norte-americanas. Esse novo vírus foi identificado pela primeira vez em Israel, em 2002, e parece circular nos Estados Unidos desde então. Doenças humanas causadas por esses vírus serão discutidas na Parte Quatro. Neste capítulo, iremos estudar a biologia dos vírus.

SOB O MICROSCÓPIO

Lentivirus. O vírus causador da Aids.

P&R

Em 2007, pesquisadores converteram células da pele em células-tronco embrionárias. Primeiramente, eles inseriram moléculas de RNA complementar para quatro genes embrionários em um vírus; o provírus resultante inseriu os genes no DNA das células da pele. Que vírus pode fazer isto?

Procure pela resposta neste capítulo.

Características gerais dos vírus

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-1 Diferenciar um vírus de uma bactéria.

Cerca de cem anos atrás, os pesquisadores não poderiam imaginar a existência de partículas submicroscópicas, descrevendo então estes agentes infecciosos como um fluido contagioso – do latim, *contagium vivum fluidum*. Já em 1930, os cientistas começaram a utilizar a palavra *virus*, que no latim significa veneno, para descrever estes agentes filtráveis. Todavia, a natureza dos vírus permaneceu obscura até 1935, quando Wendell Stanley, um químico norte-americano, isolou o vírus do mosaico do tabaco, tornando possível, pela primeira vez, o desenvolvimento de estudos químicos e estruturais com um vírus purificado. A invenção do microscópio eletrônico, aproximadamente na mesma época, possibilitou sua visualização.

A questão de os vírus serem organismos vivos ou não tem uma resposta ambígua. A vida pode ser definida como um conjunto complexo de processos resultantes da ação de proteínas codificadas por ácidos nucleicos. Os ácidos nucleicos das células vivas estão em atividade o tempo todo. Como são inertes fora das células vivas, os vírus não são considerados organismos vivos. No entanto, quando um vírus penetra uma célula hospedeira, o ácido nucleico viral torna-se ativo, ocorrendo a multiplicação viral. Sob esse ponto de vista, os vírus estão vivos quando se multiplicam dentro da célula hospedeira. Do ponto de vista clínico, os vírus podem ser considerados vivos por serem capazes de causar infecção e doença, assim como bactérias, fungos e protozoários patogênicos. Dependendo do ponto de vista, um vírus pode ser considerado um agregado excepcionalmente complexo de elementos químicos ou um micro-organismo muito simples.

Como então definimos um vírus? Originalmente, os vírus foram diferenciados de outros agentes infecciosos por serem muito pequenos (filtráveis) e por serem **parasitas intracelulares obrigatórios** – ou seja, requerem células hospedeiras vivas para se multiplicarem. Entretanto, essas duas propriedades são compartilhadas por determinadas bactérias pequenas como algumas riquétsias. Os vírus e as bactérias são comparados na **Tabela 13.1.**

Tabela 13.1 Comparação entre vírus e bactérias

	Bactérias		Vírus
	Bactérias típicas	Riquétsias/clamídias	
Parasita intracelular	Não	Sim	Sim
Membrana plasmática	Sim	Sim	Não
Fissão binária	Sim	Sim	Não
Passagem através de filtros bacteriológicos	Não	Não/Sim	Sim
Possui ambos, DNA e RNA	Sim	Sim	Não
Metabolismo de geração de ATP	Sim	Sim/Não	Não
Ribossomos	Sim	Sim	Não
Sensíveis a antibióticos	Sim	Sim	Não
Sensíveis ao interferon	Não	Não	Sim

Sabe-se agora que as características que realmente distinguem os vírus estão relacionadas a sua organização estrutural simples e aos mecanismos de multiplicação. Dessa forma, os **vírus** são entidades que:

- Contêm um único tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA.
- Contêm um invólucro proteico (às vezes recoberto por um envelope de lipídeos, proteínas e carboidratos) que envolve o ácido nucleico.
- Multiplicam-se no interior de células vivas utilizando a maquinaria de síntese celular.
- Induzem a síntese de estruturas especializadas na transferência do ácido nucleico viral para outras células.

Os vírus possuem poucas ou mesmo nenhuma enzima própria para seu metabolismo. Por exemplo, não possuem enzimas para a síntese proteica e a geração de ATP. Os vírus devem se apossar da maquinaria metabólica da célula hospedeira para sua multiplicação. Esse fato é de considerável importância médica para o desenvolvimento de drogas antivirais, pois a maioria das drogas que interferem na multiplicação viral também pode interferir com a fisiologia da célula hospedeira, sendo, por isso, demasiadamente tóxicas para uso clínico. (As drogas antivirais são discutidas no Capítulo 20.)

Espectro de hospedeiros

O **espectro de hospedeiros** de um vírus consiste na variedade de células hospedeiras que o vírus pode infectar. Existem vírus que infectam invertebrados, vertebrados, plantas, protistas, fungos e bactérias. No entanto, a maioria é capaz de infectar tipos específicos de células de uma única espécie de hospedeiro. Em raras exceções, os vírus cruzam barreiras de espécies, expandindo assim seu espectro de hospedeiros. Um exemplo é descrito no quadro da página 370. Neste capítulo iremos nos preocupar principalmente com os vírus que infectam seres humanos e bactérias. Os vírus que infectam bactérias são denominados **bacteriófagos** ou **fagos**.

O espectro de hospedeiros de um vírus é determinado pela exigência viral quanto à sua ligação específica à célula hospedeira e pela disponibilidade de fatores celulares do hospedeiro em potencial necessários para a multiplicação viral. Para que ocorra a infecção da célula hospedeira, a superfície externa do vírus deve interagir quimicamente com receptores específicos presentes na superfície celular. Os dois componentes complementares são unidos por ligações fracas, como ligações de hidrogênio. A combinação de muitos sítios de ligação e receptores resulta em uma forte associação entre a célula hospedeira e o vírus. Para alguns bacteriófagos, o receptor faz parte da parede da célula hospedeira; em outros casos, faz parte das fímbrias ou dos flagelos. No caso de vírus animais, os receptores estão na membrana plasmática das células hospedeiras.

A possibilidade de utilização dos vírus para tratamento de doenças é intrigante por causa de seu estreito espectro de hospedeiros e sua capacidade de matar as células hospedeiras. A ideia de

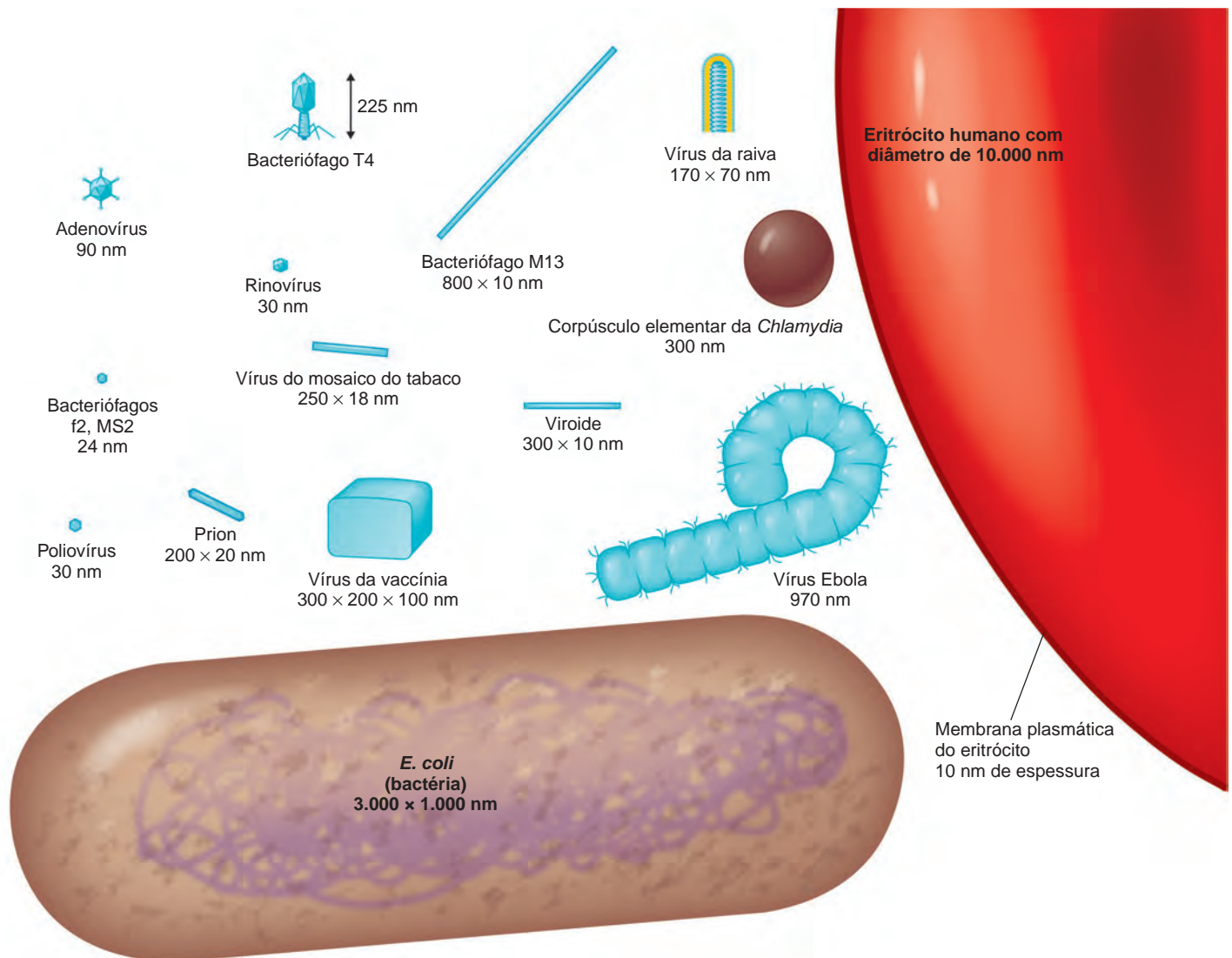



Figura 13.1 Tamanho dos vírus. Os tamanhos de vários vírus (em azul esverdeado) e bactérias (em marrom) são comparados com um eritrócito humano, representado à direita dos micróbios. As dimensões estão em nanômetros (nm) e representam diâmetro ou comprimento por largura.

P Quais as diferenças entre os vírus e as bactérias?

uma *fagoterapia*, utilizando bacteriófagos para tratar infecções bacterianas, já existe há cerca de 100 anos. Avanços recentes no entendimento das interações vírus-hospedeiro têm possibilitado novos estudos no campo da fagoterapia.

Infecções virais induzidas experimentalmente em pacientes com câncer durante a década de 1920 sugeriram que os vírus podem ter atividades antitumorais. Estes vírus destruidores de tumor, ou *oncolíticos*, podem seletivamente infectar e matar células tumorais ou induzir uma resposta imune contra essas células. Alguns vírus infectam de forma natural as células tumorais e outros podem ser modificados geneticamente para infectá-las. Atualmente, vários estudos estão em andamento para determinar o mecanismo de ação dos vírus oncolíticos e a segurança do uso da terapia viral.

Tamanho dos vírus

O tamanho viral é determinado com o auxílio da microscopia eletrônica. Vírus diferentes variam consideravelmente em tamanho. Apesar de a maioria deles ser um pouco menor que as bactérias, alguns dos maiores vírus (como o vírus da vaccínia) são praticamente do mesmo tamanho de algumas bactérias pequenas (como micoplasmas, riquétsias e clamídias). O comprimento dos vírus varia de cerca de 20 a 1.000 nm. A **Figura 13.1** ilustra o tamanho comparativo de alguns vírus e bactérias.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como o pequeno tamanho dos vírus poderia ter ajudado os pesquisadores a detectá-los antes da invenção da microscopia eletrônica? **13-1**

FOCO CLÍNICO Do relatório semanal de morbidade e mortalidade (*morbidity and mortality weekly report*)

Influenza: cruzando a barreira de espécies

O vírus da gripe, ou influenza tipo A, é encontrado em vários animais diferentes, incluindo porcos, baleias, cavalos e focas. Algumas vezes, o vírus influenza A detectado em uma espécie animal pode cruzar a barreira da espécie e causar doença em outra espécie. Por exemplo, até 1998 somente o subtipo H1N1 era encontrado nas populações de porcos nos Estados Unidos. Em 1998, o subtipo H3N2, proveniente de seres humanos, foi introduzido na população de porcos e causou doença disseminada no rebanho de suínos. Os subtipos diferem por causa de certas proteínas localizadas na superfície do vírus (as proteínas hemaglutinina [HA] e neuraminidase [NA]). Existem 16 subtipos diferentes de HA e 9 subtipos diferentes de NA do vírus influenza tipo A.

Como diferentes combinações de proteínas H e N são possíveis?

Cada combinação corresponde a um subtipo diferente. Quando falamos de "vírus influenza humano" nos referimos àqueles subtipos amplamente disseminados entre seres humanos. Existem somente três subtipos conhecidos de vírus influenza humano (H1N1, H1N2 e H3N2).

O que existe de diferente nos vírus da Tabela A?

Estes subtipos ocorrem principalmente em aves. Os vírus que causam a influenza aviária em geral não infectam seres humanos, mas podem ser transmitidos aos seres humanos: (1) diretamente das aves ou de ambientes contaminados por elas ou (2) através de um hospedeiro intermediário, como o porco. Os porcos são transmissores importantes, pois podem ser infectados com os vírus influenza humano e aviário. O genoma do vírus influenza é composto por oito segmentos. Um genoma segmentado permite o rearranjo dos genes virais e a criação de novos vírus influenza A se partículas virais de duas espécies diferentes infectarem a mesma pessoa ou animal (veja a figura). Isto é conhecido como *desvio antigênico* (do inglês *antigenic shift*).

Por que ocorrem tão poucos casos de influenza aviária em humanos?

Até o momento, o vírus da influenza aviária não tem causado surtos na população humana, pois a transmissão pessoa-pessoa não é infectiva. Todos os casos na Tabela A podem ser atribuídos a surtos em aves domésticas, exceto um caso notável de possível transmissão de uma filha para sua mãe.

Em quais continentes ocorreram casos de infecção por H5N1 em humanos?

Durante o século XX, o surgimento de novos subtipos de influenza A causou três pandemias, todas disseminados ao redor do mundo em um intervalo de um ano após terem sido detectadas pela primeira vez (veja a Tabela B). É provável que alguns segmentos de genoma desses subtipos de influenza A tenham se originado das aves. Muitos cientistas acreditam que a ocorrência de uma próxima pandemia de influenza é apenas uma questão de tempo.

Fonte: Adaptado dos textos do *MMWR*.

Tabela A Casos recentes de infecções humanas pelo vírus da influenza aviária

Vírus influenza	Localização	Ano	Casos humanos
H5N1	Sudeste asiático	2005-2007	350 esporádicos
H5N1	Egito	2006-2007	38
H5N1	China	2006-2007	25
H7N2	Reino Unido	2007	4
H5N1	Turquia	2006	3
H5N1	Iraque	2006	2
H5N1	Azerbaijão	2006	1
H5N1	Jibuti	2006	1
H5N1	Nigéria	2007	1
H5N1	Sudeste asiático	2005	130 esporádicos
H5N1	Sudeste asiático	2004	35 esporádicos
H7N3	Canadá	2004	Infecções oculares em trabalhadores de granjas
H7N2	Nova Yorque	2003	1
H7N7	Holanda	2003	89
H5N1	China	2003	2
H7N2	Virgínia	2002	1
H9N2	China	1999	2
H5N1	China	1997	18

Estrutura viral

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-2 Descrever a estrutura química e física dos vírus envelopados e dos vírus não envelopados.

Um **vírion** é uma partícula viral completa e infecciosa composta por um ácido nucleico envolto por uma cobertura de proteína, que o protege do ambiente e serve como um veículo de transmissão de uma célula hospedeira para outra. Os vírus são classificados de acordo com as diferenças na estrutura desses envoltórios.

Tabela B	Pandemias causadas por influenza A durante o século XX
1918-19	O vírus H1N1 causou mundialmente cerca 50 milhões de mortes. A origem do vírus pandêmico de 1918-19 não é clara.
1957-58	O vírus H2N2 causou cerca de 70.000 mortes nos Estados Unidos. Foi inicialmente identificado na China no final do mês de fevereiro de 1957. O vírus continha uma combinação de genes do vírus influenza humano e aviário.
1968-69	O vírus H3N2 causou cerca de 34.000 mortes nos Estados Unidos. O vírus continha genes do vírus influenza humano e aviário.

Modelo para o desvio antigênico observado no vírus influenza.
Se um porco é infectado com um vírus influenza humano e um vírus influenza aviário ao mesmo tempo, os vírus podem sofrer rearranjo e gerar um novo vírus, que possui a maioria dos genes de um vírus humano, mas a hemaglutinina e/ou a neuraminidase de um vírus aviário. O novo vírus resultante poderia então infectar seres humanos e se disseminar entre as pessoas, mas teria as proteínas de superfície (hemaglutinina e/ou neuraminidase) não observadas previamente em vírus influenza que infectam seres humanos.

Ácido nucleico

Ao contrário das células procarióticas e eucarióticas, nas quais o DNA é sempre o material genético principal (o RNA possui um papel auxiliar), os vírus podem possuir tanto DNA como RNA, mas nunca ambos. O ácido nucleico dos vírus pode ser de fita simples ou dupla. Assim, existem vírus com DNA de fita dupla, DNA de fita simples, RNA de fita dupla e RNA de fita simples. Dependendo do vírus, o ácido nucleico pode ser linear ou circu-

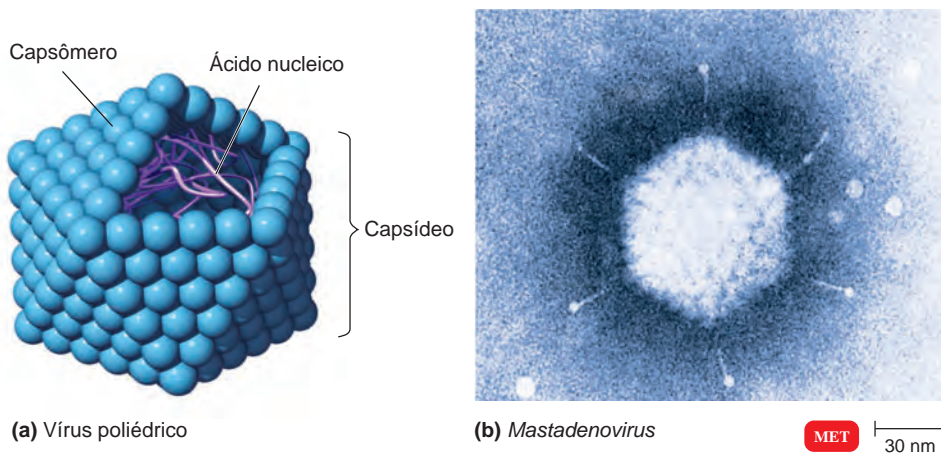
(a) Vírus poliédrico

(b) *Mastadenovirus*

Figura 13.2 **Morfologia de um vírus poliédrico não envelopado.** **(a)** Diagrama de um vírus poliédrico (icosaédrico). **(b)** Microfotografia do *Mastadenovirus*, um adenovírus. São visíveis os capsômeros individuais do capsídeo.

P **Qual é a composição química do capsídeo?**

lar. Em alguns vírus (como o vírus da gripe), o ácido nucleico é segmentado.

A porcentagem de ácido nucleico viral em relação à porcentagem de proteína é de cerca de 1% no caso do vírus influenza e de cerca de 50% para certos bacteriófagos. A quantidade total de ácido nucleico varia de poucos milhares de nucleotídeos (ou pares de nucleotídeos) até 250.000 nucleotídeos. (O cromossomo de *E. coli* possui, aproximadamente, 4 milhões de pares de bases.)

Capsídeo e envelope

O ácido nucleico dos vírus é protegido por um envoltório proteico chamado de **capsídeo** (**Figura 13.2a**). A estrutura do capsídeo é determinada basicamente pelo genoma viral e constitui a maior parte da massa viral, especialmente em partículas pequenas. Cada capsídeo é composto por subunidades proteicas chamadas de **capsômeros**. Em alguns vírus, as proteínas que compõem os capsômeros são de um único tipo; em outros, vários tipos de proteínas podem estar presentes. Os capsômeros em geral são visíveis nas microfotografias eletrônicas (veja um exemplo na **Figura 13.2b**). A organização dos capsômeros é característica para cada tipo de vírus.

Em alguns vírus, o capsídeo é coberto por um **envelope** (**Figura 13.3a**), que normalmente consiste em uma combinação de lipídeos, proteínas e carboidratos. Alguns vírus animais são liberados da célula hospedeira por um processo de extrusão, no qual a partícula é envolvida por uma camada de membrana plasmática celular que passa a constituir o envelope viral. Em muitos casos, o envelope contém proteínas codificadas pelo genoma viral juntamente com materiais derivados de componentes normais da célula hospedeira.

Dependendo do vírus, os envelopes podem ou não apresentar **espículas**, constituídas por complexos carboidrato-proteína que se projetam da superfície do envelope. Alguns vírus se ligam à superfície da célula hospedeira através dessas espículas, que são tão características de muitos vírus que são usadas na sua identificação. A capacidade de determinados vírus, como o vírus da gripe (**Figura 13.3b**), de agregar eritrócitos está associada à presença das espículas. Esses vírus se ligam aos eritrócitos formando pontes en-

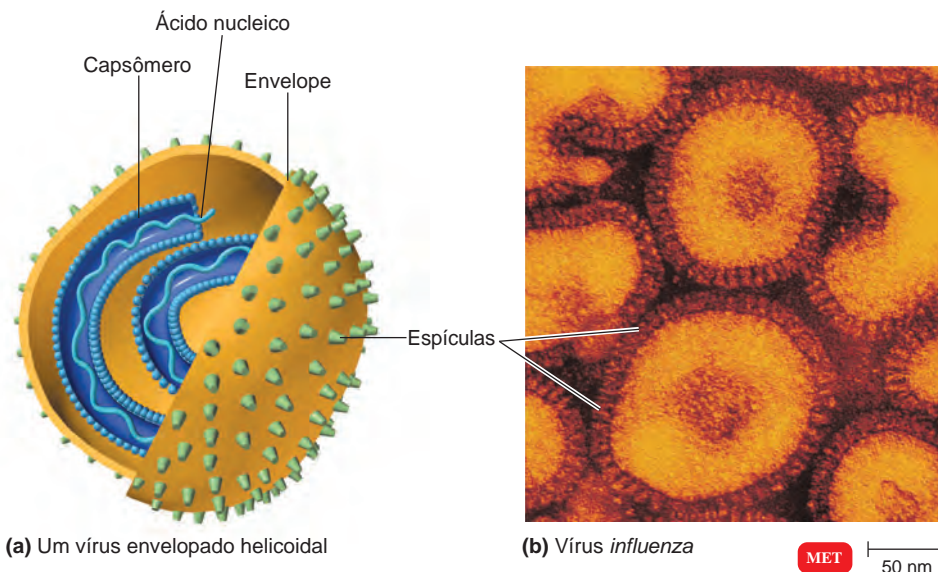
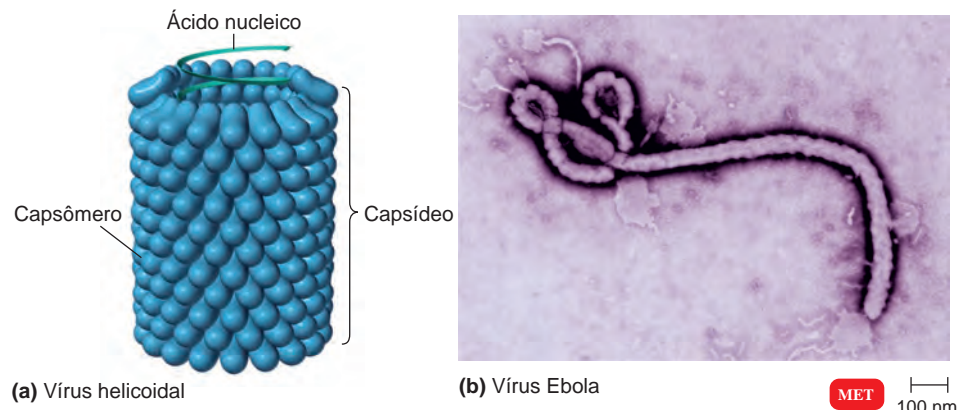
(a) Um vírus envelopado helicoidal

(b) Vírus *influenza*

Figura 13.3 **Morfologia de um vírus helicoidal envelopado.** **(a)** Diagrama de um vírus helicoidal envelopado. **(b)** Microfotografia do vírus influenza A2. Note o halo de espículas se projetando da superfície externa do envelope (veja o Capítulo 24).

P **Quais são os tipos de ácido nucleico de um vírus?**

Figura 13.4 **Morfologia de um vírus helicoidal.** **(a)** Diagrama de uma parte de um vírus helicoidal. Foram removidas várias fileiras de capsômeros para expor o ácido nucleico. **(b)** Microfotografia do vírus Ebola, um filovírus, mostrando os bastonetes helicoidais.

P **Qual é a composição química dos capsômeros?**

tre eles. A agregação resultante é chamada de *hemaglutinação* e é a base para vários testes laboratoriais úteis. (Veja a Figura 18.7, página 511.)

Os vírus cujos capsídeos não estão cobertos por um envelope são conhecidos como **vírus não envelopados** (veja a Figura 13.2). Nesse caso, o capsídeo protege o ácido nucleico viral do ataque das nucleases presentes nos fluidos biológicos e promove a ligação da partícula às células suscetíveis.

Quando um hospedeiro é infectado por um vírus, o sistema imune é estimulado a produzir anticorpos (proteínas que reagem com as proteínas de superfície do vírus). Essa interação entre os anticorpos do hospedeiro e as proteínas virais inativa o vírus e interrompe a infecção. Entretanto, muitos vírus podem escapar dos anticorpos, pois os genes que codificam as proteínas virais de superfície sofrem mutações. A progênie dos vírus mutantes possui proteínas de superfície alteradas, de forma que não são capazes de reagir com os anticorpos. O vírus da gripe frequentemente sofre alterações em suas espículas, sendo por esta razão que se contrai a gripe mais de uma vez. Apesar de termos produzido anticorpos contra um subtipo de vírus da gripe, este pode sofrer mutações e nos infectar novamente.

Morfologia geral

Os vírus podem ser classificados em vários tipos morfológicos diferentes, com base na arquitetura do capsídeo. A estrutura do capsídeo tem sido elucidada por microscopia eletrônica e uma técnica conhecida como cristalografia de raios X.

Vírus helicoidais

Os vírus helicoidais lembram bastões longos, que podem ser rígidos ou flexíveis. O genoma viral está no interior de um capsídeo cilíndrico e oco com estrutura helicoidal (**Figura 13.4**). Os vírus que causam raiva e febre hemorrágica são helicoidais.

Vírus poliédricos

Muitos vírus animais, vegetais e bacterianos são poliédricos. O capsídeo da maioria dos vírus poliédricos tem a forma de um icosaedro, um poliedro regular com 20 faces triangulares e 12 vértices (veja a Figura 13.2a). Os capsômeros de cada face formam um triângulo equilátero. O adenovírus é um exemplo de um vírus poliédrico com a forma de um icosaedro (veja a Figura 13.2b). O poliovírus também é icosaédrico.

Vírus envelopados

Como mencionado anteriormente, o capsídeo de alguns vírus é coberto por um envelope. Os vírus envelopados são relativamente esféricos. Os vírus helicoidais e os poliédricos envoltos por um envelope são denominados *vírus helicoidais envelopados* ou *vírus poliédricos envelopados*. Um exemplo de vírus helicoidal envelopado é o vírus influenza (veja a Figura 13.3b). O vírus do herpes (gênero *Simplexvirus*) é um exemplo de vírus poliédrico (icosaédrico) envelopado (veja a Figura 13.16b).

Vírus complexos

Alguns vírus, particularmente os vírus bacterianos, possuem estruturas complicadas e são denominados **vírus complexos**. Um bacteriófago é um exemplo de um vírus complexo. Alguns bacteriófagos possuem capsídeos com estruturas adicionais aderidas (**Figura 13.5a**). Nesta figura, note que o capsídeo (cabeça) é poliédrico e a bainha é helicoidal. A cabeça contém o genoma viral. Mais adiante neste capítulo, serão descritas as funções de outras estruturas, como a bainha, as fibras da cauda, a placa e o pino. Os poxvírus são outro exemplo de vírus complexos que não possuem capsídeos claramente definidos, mas apresentam várias coberturas ao redor do genoma viral (**Figura 13.5b**).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Desenhe um vírus poliédrico não envelopado que possua espículas. **13-2**

Taxonomia dos vírus

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

13-3 Definir espécie viral.

13-4 Dar um exemplo de família, gênero e nome vulgar de um vírus.

Da mesma maneira que precisamos de categorias taxonômicas para plantas, animais e bactérias, necessitamos de taxonomia viral para

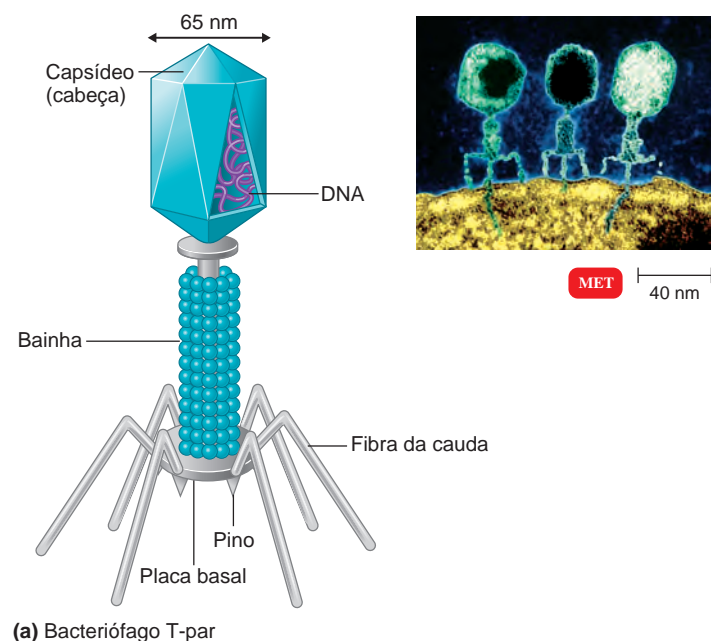
(a) Bacteriófago T-par

(b) *Orthopoxvirus*

Figura 13.5 Morfologia de um vírus complexo. (a) Diagrama e microfotografia de um bacteriófago T-par. **(b)** Microfotografia do vírus da varíola, uma espécie do gênero *Orthopoxvirus*.

P Qual é a importância do capsídeo para um vírus?

nos auxiliar a organizar e entender novos organismos descobertos. A classificação mais antiga dos vírus tem como base a sintomatologia, como a das doenças que afetam o sistema respiratório. Esse sistema é conveniente, mas não é aceitável cientificamente porque o mesmo vírus pode causar mais de uma doença, dependendo do tecido afetado. Além disso, esse sistema agrupa artificialmente vírus que não infectam seres humanos.

Os virologistas começaram a tratar do problema da taxonomia viral em 1966, com a criação do Comitê Internacional de Taxonomia Viral (CITV). Desde então, o CITV tem agrupado os vírus em famílias com base (1) no tipo de ácido nucleico viral, (2) na estratégia de replicação e (3) na morfologia. O sufixo *virus* é usado para os gêneros, enquanto as famílias de vírus recebem o sufixo *viridae*, e as ordens, o sufixo *ales*. No uso formal, os nomes das famílias e dos gêneros são usados da seguinte maneira: Família *Herpesviridae*, gênero *Simplexvirus*, vírus do herpes humano tipo 2.

Uma **espécie viral** compreende um grupo de vírus que compartilham a mesma informação genética e o mesmo nicho ecológico (espectro de hospedeiros). Epítetos específicos não são utilizados para os vírus. Dessa forma, as espécies virais são designadas por nomes descritivos vulgares, como vírus da imunodeficiência humana (HIV), e as subespécies (se existirem) são designadas com um número (HIV-1). A **Tabela 13.2** apresenta um resumo para a classificação dos vírus que infectam seres humanos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Como as espécies virais se diferenciam das espécies bacterianas? **13-3**

✔ Adicione as terminações corretas à palavra *Papilloma* – para exemplificar a família e o gênero que incluem o HPV, o vírus que causa o câncer cervical. **13-4**

Isolamento, cultivo e identificação de vírus

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

13-5 Descrever como os bacteriófagos são cultivados.

13-6 Descrever como os vírus animais são cultivados.

13-7 Listar três técnicas utilizadas para identificar os vírus.

O fato de os vírus não poderem se multiplicar fora de uma célula viva complica a detecção, a quantificação e a identificação. Os vírus não se multiplicam em meios de cultura quimicamente sintéticos, devendo estar obrigatoriamente associados a células vivas. As plantas e os animais são de manutenção difícil e dispendiosa, e os vírus patogênicos que se multiplicam somente em primatas superiores ou em hospedeiros humanos trazem complicações adicionais. No entanto, os vírus cujos hospedeiros são as células bacterianas (bacteriófagos) multiplicam-se mais facilmente em culturas bacterianas. Essa é uma razão pela qual a maior parte do nosso conhecimento sobre a multiplicação viral provém do estudo dos bacteriófagos.

O cultivo de bacteriófagos em laboratório

Os bacteriófagos podem se multiplicar tanto em culturas bacterianas em meio líquido em suspensão quanto em meio sólido. O meio sólido torna possível o uso do *método da contagem da placa de lise* para a detecção e a quantificação das partículas virais. Uma amostra de bacteriófagos é misturada com as bactérias em ágar fundido. O ágar contendo a mistura de bacteriófagos e bactérias é então colocado em uma placa de Petri contendo uma camada de meio de cultura com ágar mais duro. A mistura vírus-bactéria se solidifica formando uma camada com a espessura aproximada de uma célula bacteriana. Cada vírus infecta uma bactéria, se multiplica e libera centenas de novos vírus que infectarão as bactérias adjacentes que, por sua vez, produzirão novos vírus. Após vários ciclos de multiplicação viral, todas as bactérias localizadas nas proximidades da infecção inicial são destruídas. Isso leva à produção de um determinado número de zonas claras, ou **placas de**

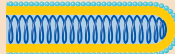
Tabela 13.2 Famílias de vírus que afetam seres humanos

Características/ dimensões	Família viral	Gêneros importantes	Aspectos clínicos ou especiais
DNA de fita simples não envelopado			
18 a 25 nm	*Parvoviridae*	Parvovírus humano B19	A quinta doença; anemia em pacientes imunocomprometidos. Consulte o Capítulo 21.
DNA de fita dupla não envelopado			
70 a 90 nm	*Adenoviridae*	*Mastadenovirus*	Vírus de tamanho médio que causam várias infecções respiratórias em seres humanos; alguns causam tumores em animais.
40 a 57 nm	*Papovaviridae*	*Papillomavirus* (vírus que causam verrugas em seres humanos) *Polyomavirus*	Vírus pequenos que induzem tumores; vírus que causam verrugas em humanos (papiloma) e determinados vírus que produzem câncer em animais (polioma e símio). Consulte os Capítulos 21 e 26.
DNA de fita dupla envelopado			
200 a 350 nm	*Poxviridae*	*Orthopoxvirus* da (vírus da vaccínia e varíola) *Molluscipoxvirus*	Vírus muito grandes, complexos e em forma de tijolo que causam doenças como a varíola, o *Moluscum contagiosum* (lesões de pele semelhantes a verrugas) e a varíola bovina (*Cowpox*). Consulte o Capítulo 21.
150 a 200 nm	*Herpesviridae*	*Simplexvirus* (HHV-1 e 2) *Varicellovirus* (HHV-3) *Lymphocryptovirus* (HHV-4) *Cytomegalovirus* (HHV-5) *Roseolovirus* (HHV-6) HHV-7 Vírus do sarcoma de Kaposi (HHV-8)	Vírus de tamanho médio que causam várias doenças em humanos como herpes labial, catapora, herpes zoster e mononucleose infecciosa; causam um tipo de câncer humano denominado linfoma de Burkitt. Consulte os Capítulos 21, 23 e 26.
42 nm	*Hepadnaviridae*	*Hepadnavirus* (vírus da hepatite B)	Após a síntese proteica, o vírus da hepatite B usa a transcriptase reversa para produzir o seu DNA a partir de um mRNA; causa hepatite B e tumores hepáticos. Consulte o Capítulo 25.
RNA de fita simples positiva não envelopado			
28 a 30 nm	*Picornaviridae*	*Enterovirus* *Rhinovirus* (vírus do resfriado comum) Vírus da hepatite A	São conhecidos, pelo menos, 70 enterovírus humanos, incluindo poliovírus, coxsackie e ecovírus; existem mais de 100 rinovírus que são a causa mais comum dos resfriados. Consulte os Capítulos 22, 24 e 25.
35 a 40 nm	*Caliciviridae*	Vírus da Hepatite E *Norovirus*	Inclui agentes causadores de gastrenterites e um tipo de hepatite humana. Consulte o Capítulo 25.
RNA de fita simples positiva envelopado			
60 a 70 nm	*Togaviridae*	*Alphavirus* *Rubivirus* (vírus da rubéola)	Inclui muitos vírus transmitidos por artrópodes (*Alphavirus*); entre as doenças estão as encefalites equinas orientais e ocidentais. O vírus da rubéola é transmitido por via respiratória. Consulte os Capítulos 21, 22 e 23.

Tabela 13.2 Famílias de vírus que afetam seres humanos

Características/ dimensões	Família viral	Gêneros importantes	Aspectos clínicos ou especiais
40 a 50 nm	*Flaviviridae*	*Flavivirus* *Pestivirus* Vírus da hepatite C	Podem se replicar nos artrópodes que os transmitem; as doenças incluem a febre amarela, a dengue e as encefalites de St. Louis e do Oeste do Nilo (*West Nile virus*). Consulte os Capítulos 22, 23 e 25.
80 a 160 nm	*Coronaviridae*	*Coronavirus*	Associados com infecções do trato respiratório superior e resfria-do comum; vírus causador da síndrome respiratória aguda severa (SARS). Consulte o Capítulo 24.
RNA de fita simples negativa, fita única			
70 a 180 nm	*Rhabdoviridae*	*Vesiculovirus* (vírus da estomatite vesicular) *Lyssavirus* (vírus da raiva)	Vírus em forma de projétil possuindo envelope com espículas; causam raiva e numerosas doenças animais. Consulte o Capítulo 22.
80 a 14.000 nm	*Filoviridae*	*Filovirus*	Vírus helicoidais envelopados; os vírus Ebola e Marburg são filovírus.
150 a 300 nm	*Paramyxoviridae*	*Paramyxovirus* *Morbillivirus* (vírus do sarampo)	Os paramixovírus causam *parainfluenza*, caxumba e a doença de Newcastle em aves domésticas. Consulte os Capítulos 21, 24 e 25.
32 nm	*Deltaviridae*	Hepatite D	Depende de coinfecção com *Hepadnavirus*. Consulte o Capítulo 25.
RNA de fita simples negativa, segmentado			
80 a 200 nm	*Orthomyxoviridae*	*Vírus influenza* A, B e C	As espículas presentes no envelope aglutinam eritrócitos. Consulte o Capítulo 24.
90 a 120 nm	*Bunyaviridae*	*Bunyavirus* (vírus da encefalite da Califórnia) *Hantavirus*	Os hantavírus causam febres hemorrágicas como a febre hemorrágica coreana e a síndrome pulmonar; associados com roedores. Consulte os Capítulos 22 e 23.
110 a 130 nm	*Arenaviridae*	*Arenavirus*	Os capsídeos helicoidais possuem grânulos contendo RNA; causam coriomeningite linfocitária, febre hemorrágica venezuelana e a febre de Lassa. Consulte o Capítulo 23.
Produz DNA			
100 a 120 nm	*Retroviridae*	*Oncovirus* *Lentivirus* (HIV)	Incluem todos os vírus de RNA causadores de tumor. Os oncovírus causam leucemia e tumores em animais; o lentivírus HIV causa Aids. Consulte o Capítulo 19.
RNA de fita dupla, não envelopado			
60 a 80 nm	*Reoviridae*	*Reovirus* *Rotavirus*	Envolvidos em infecções respiratórias brandas e gastrenterites; uma espécie sem classificação causa a febre do carrapato do Colorado. Consulte o Capítulo 25.

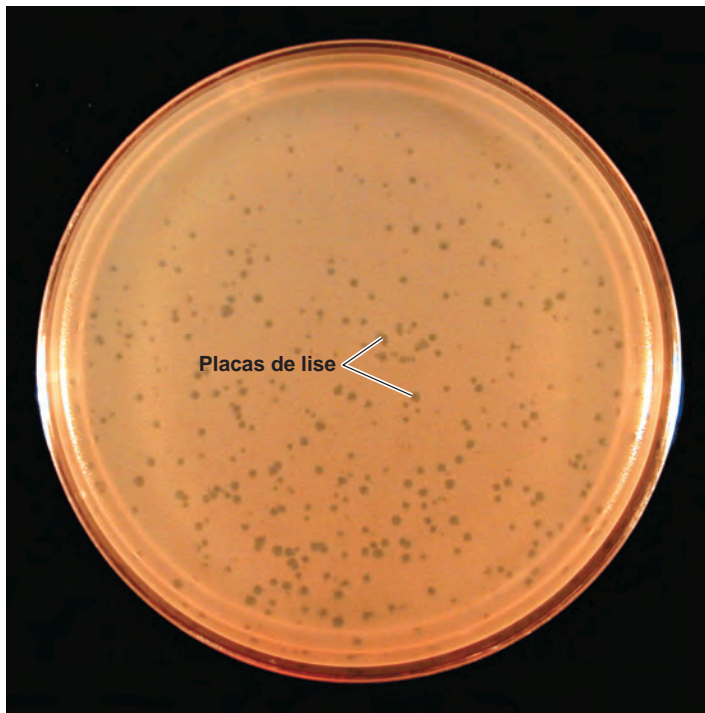



Figura 13.6 Placas de lise formadas por bacteriófagos. Placas de lise de diferentes tamanhos formadas pelo bacteriófago λ (lambda) em uma monocamada de *E. coli.*

P O que significa unidade formadora de placa?

lise, que são visíveis na monocamada de células bacterianas que crescem na superfície do ágar (**Figura 13.6**). Enquanto as placas são formadas, as bactérias de outras regiões da placa de Petri e que não foram infectadas continuam se proliferando rapidamente e produzem áreas de turbidez.

Cada placa corresponde, teoricamente, a uma única partícula viral da suspensão original. Dessa forma, a concentração das suspensões virais, medida pelo número de placas formadas, em geral é dada em **unidades formadoras de placas** (**UFPs**).

O cultivo de vírus animais em laboratório

Em laboratório, geralmente são utilizados três métodos para o cultivo de vírus animais. Esses métodos envolvem o uso de animais, ovos embrionados e culturas celulares.

Em animais vivos

Alguns vírus só podem ser cultivados em animais como camundongos, coelhos e cobaias. A maioria dos estudos para avaliar a resposta imune contra infecções virais também é realizada em animais infectados. A inoculação de animais pode ser utilizada como um procedimento diagnóstico para a identificação e o isolamento de um vírus a partir de amostras clínicas. Após ser inoculado com o espécime clínico, o animal é observado quanto ao aparecimento de sinais de doença ou é sacrificado para que seus tecidos possam ser analisados à procura de partículas virais.

Alguns vírus humanos não se multiplicam em animais, ou se multiplicam, mas não causam doença aparente. A falta de modelos animais naturais para o vírus da Aids tem tornado mais lento o nosso entendimento sobre o processo da doença e tem impedido o teste de drogas que inibam a multiplicação do vírus *in vivo*. Os chimpanzés podem ser infectados com uma subespécie do HIV (HIV-1, gênero *Lentivirus*), mas, como não apresentam sintomas da doença, não podem ser usados no estudo dos efeitos da multiplicação viral ou no tratamento da doença. Vacinas contra a Aids estão sendo testadas atualmente em seres humanos, mas a doença evolui de maneira tão lenta que pode demorar anos para se determinar sua eficácia. Em 1986, foi descrita uma Aids símia, uma doença da imunodeficiência em macacos verdes, seguida da descrição, em 1987, de uma Aids felina, uma doença da imunodeficiência em gatos domésticos. Essas doenças são causadas por lentivírus proximamente relacionados ao HIV que se desenvolvem em poucos meses, constituindo assim um modelo para se estudar a multiplicação viral em diferentes tecidos. Em 1990, foi desenvolvido um método para inoculação de camundongos com o HIV que consiste no uso de camundongos imunodeficientes enxertados para a produção de células T e gamaglobulina humanas. Os camundongos constituem um modelo confiável para o estudo da replicação viral, embora não sejam um modelo adequado para o desenvolvimento de vacinas.

Em ovos embrionados

Para vírus capazes de se multiplicar em *ovos embrionados*, essa é uma forma de hospedeiro conveniente e não dispendiosa para o cultivo de muitos vírus animais. Uma perfuração é feita na casca do ovo embrionado, e uma suspensão viral ou uma suspensão de tecido suspeito de conter vírus é injetada no fluido presente no interior do ovo. O ovo contém várias membranas, e os vírus também podem ser injetados próximos da membrana mais adequada à sua multiplicação (**Figura 13.7**). A multiplicação viral se manifesta

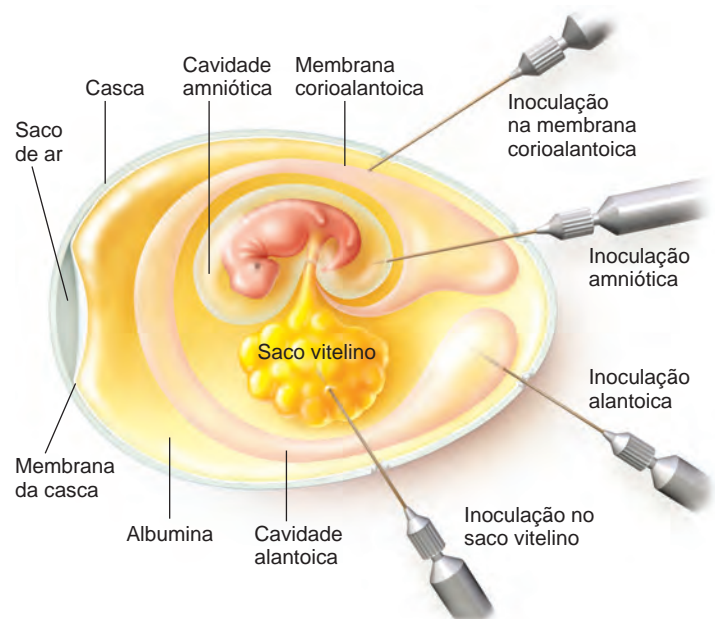



Figura 13.7 Inoculação em um ovo embrionado. Os sítios das injeções determinam em qual membrana os vírus irão se multiplicar.

P Por que os vírus se multiplicam em ovos e não em meios de cultura?

Figura 13.8 **Culturas celulares.** As células transformadas podem crescer indefinidamente em cultivo.

P Por que nos referimos às células transformadas como células "imortais"?

pela morte do embrião, por danos às células embrionárias ou pela formação de lesões típicas nas membranas. Esse método já foi um dos mais utilizados para o isolamento e a multiplicação viral, sendo ainda usado na produção de vírus para algumas vacinas. É por isso que poderão nos perguntar, antes de sermos vacinados, se somos alérgicos a ovo, pois proteínas do ovo podem estar presentes nessas preparações de vacinas. (As reações alérgicas serão discutidas no Capítulo 19.)

Em culturas de células

As **culturas de células** têm substituído os ovos embrionados como meio de cultivo preferido para muitos vírus. As culturas de células consistem em células que se dividem em meio de cultura em laboratório. É mais conveniente trabalhar com cultivos celulares do que com animais ou ovos embrionados, pois em geral os cultivos constituem coleções mais homogêneas de células e podem ser propagados e manipulados da mesma forma que as culturas bacterianas.

A obtenção de uma linhagem celular é iniciada com o tratamento enzimático de fragmentos do tecido animal para separação das células (**Figura 13.8**). As células isoladas são suspensas em uma solução com pressão osmótica, nutrientes e fatores de crescimento necessários ao seu desenvolvimento. As células normais tendem a aderir ao recipiente de plástico ou vidro e se reproduzem formando uma monocamada. A infecção viral dessa monocamada muitas vezes causa a sua destruição à medida que os vírus se multiplicam. Essa destruição celular é denominada **efeito citopático** (**ECP**), ilustrado na **Figura 13.9**. O ECP pode ser detectado e quantificado da mesma forma que as placas de lise produzidas por bacteriófagos em monocamadas de bactéria, sendo informado como UFP/mL.

Os vírus podem se multiplicar em células de linhagem primária ou contínua. As **células de linhagem primária**, derivadas de fragmentos de tecidos, tendem a morrer após poucas gerações. Determinadas linhagens celulares, denominadas **linhagens diploides**, derivadas de embriões humanos, podem manter-se por cerca de 100 gerações e são amplamente utilizadas para a multiplicação de vírus que requerem hospedeiros humanos. Linhagens como essas são utilizadas para o cultivo do vírus da raiva na produção de uma vacina antirrábica chamada de vacina humana diploide (veja o Capítulo 22).

As **células de linhagem contínua** são utilizadas na multiplicação rotineira de vírus em laboratório. São células transformadas (ou cancerígenas) aquelas que podem ser mantidas por um número indefinido de gerações, sendo às vezes chamadas de linhagens imortais (veja a discussão sobre transformação na página 390). Uma dessas linhagens, a célula HeLa, foi isolada do câncer de uma mulher (Henrietta Lacks) falecida em 1951. Após anos de cultivo em laboratório, muitas dessas linhagens perderam quase todas as suas características originais, mas essas alterações não interferiram no seu uso para a multiplicação viral. Apesar do sucesso do cultivo celular no isolamento e na multiplicação dos vírus, ainda existem alguns vírus que nunca puderam ser cultivados com sucesso por meio desse método.

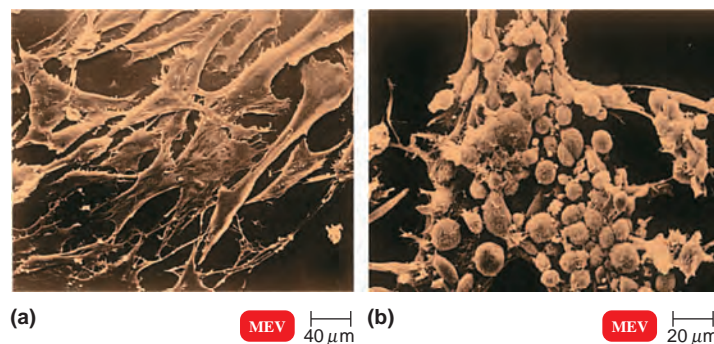



Figura 13.9 **Efeito citopático dos vírus.** **(a)** Células de camundongo não infectadas, formando uma monocamada. **(b)** As mesmas células 24 horas após a infecção com o vírus da estomatite vesicular (VSV) (veja a Figura 13.18a). Observe a superposição e o "arredondamento" celular.

P Como a infecção por VSV afeta as células?

A ideia do cultivo celular data do final do século XIX, mas só se tornou uma técnica laboratorial após o desenvolvimento dos antibióticos nos anos subsequentes à Segunda Guerra Mundial. O principal problema relacionado com o cultivo celular é que as células devem ser mantidas livres de contaminação microbiana. A manutenção de linhagens celulares requer pessoal treinado, com experiência considerável e trabalhando em tempo integral. Devido a essas dificuldades, a maioria dos laboratórios hospitalares e muitos laboratórios de saúde pública não isolam nem identificam os vírus. Em vez disso, as amostras são enviadas para laboratórios de referência especializados nessas funções.

Identificação viral

A identificação de um isolado viral não é tarefa fácil. Para começar, os vírus só podem ser vistos com o auxílio de um microscópio eletrônico. Os métodos sorológicos, como o *Western blotting*, são os métodos de identificação mais comumente utilizados (veja a Figura 10.12, página 289). Nesses testes, o vírus é detectado e identificado por sua reação com anticorpos. Os anticorpos serão discutidos com detalhes no Capítulo 17, e alguns testes imunológicos para identificação viral, no Capítulo 18. A observação dos efeitos citopáticos, descrita no Capítulo 15 (página 441), também é útil para a identificação dos vírus.

Os virologistas podem identificar e caracterizar os vírus por métodos moleculares modernos, como o uso de poliformismos de tamanho de fragmentos de restrição (RFLPs, de *restriction fragment length polymorphisms*) e da reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) (Capítulo 9, página 251). A PCR foi utilizada para amplificação do RNA viral e identificação do vírus da encefalite do oeste do Nilo nos Estados Unidos, em 1999, e do coronavírus associado à SARS na China, em 2002.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é o método de placa? **13-5**
- ✓ Por que, na prática, células de linhagem contínua são mais utilizadas para o cultivo viral do que células de linhagem primária? **13-6**
- ✓ Quais testes poderiam ser usados para a identificação do vírus influenza em um paciente? **13-7**

Multiplicação viral

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

13-8 Descrever o ciclo lítico dos bacteriófagos T-pares.

13-9 Descrever o ciclo lisogênico do bacteriófago lambda.

13-10 Comparar e contrastar o ciclo de multiplicação dos vírus animais contendo DNA ou RNA.

O ácido nucleico de um vírion contém somente uma pequena quantidade dos genes necessários para a síntese de novos vírus. Entre eles estão os genes que codificam os componentes estruturais do vírion, como as proteínas do capsídeo, e os genes que codificam algumas enzimas utilizadas no ciclo de multiplicação viral. Essas enzimas são sintetizadas e funcionam somente quando o vírus está dentro da célula hospedeira. As enzimas virais são quase que exclusivamente envolvidas na replicação e no processamento do ácido nucleico viral. As enzimas necessárias para a síntese de proteínas, os ribossomos, o tRNA e a produção de energia são fornecidos pela célula hospedeira e são usados na síntese de proteínas virais, incluindo enzimas virais. Embora os menores vírions não envelopados não contenham nenhuma enzima, os vírions maiores podem possuir uma ou mais enzimas que auxiliam no processo de penetração do vírus na célula hospedeira ou na replicação do ácido nucleico viral.

Figura 13.10 **Curva de ciclo único.** Novas partículas virais só são encontradas na cultura após a biossíntese e a maturação. A infecção viral resulta na morte da maioria das células infectadas, e consequentemente novos vírus não serão mais produzidos.

P **O que pode ser detectado nas células durante a biossíntese e a maturação?**

Assim, para que um vírus se multiplique, ele precisa invadir a célula hospedeira e assumir o comando da sua maquinaria metabólica. Um único vírion pode dar origem, em uma única célula hospedeira, a algumas ou mesmo milhares de partículas virais iguais. Esse processo pode alterar drasticamente a célula hospedeira, podendo causar sua morte. Em algumas infecções virais, a célula sobrevive e continua a produzir vírus indefinidamente.

A multiplicação dos vírus pode ser demonstrada com uma **curva de ciclo único** (Figura 13.10). Os dados podem ser obtidos por infecção de todas as células de uma cultura e posterior teste do meio de cultura e das células quanto à presença de vírions, proteínas e ácidos nucleicos virais.

Multiplicação de bacteriófagos

Embora a maneira pela qual um vírus penetra e é liberado da célula hospedeira possa variar, o mecanismo básico de multiplicação viral é similar para todos os vírus. Os bacteriófagos podem se multiplicar por dois mecanismos alternativos: o ciclo lítico e o ciclo lisogênico. O **ciclo lítico** termina com a lise e a morte da célula hospedeira, enquanto no **ciclo lisogênico** a célula hospedeira permanece viva. Visto que os *bacteriófagos T-pares* (T2, T4 e T6) são os mais estudados, descreveremos sua multiplicação em seu hospedeiro *E. coli*, como um exemplo de ciclo lítico.

Bacteriófagos T-pares: o ciclo lítico

Os vírions dos bacteriófagos T-pares são grandes, complexos e não envelopados, com uma estrutura característica de cabeça e cauda mostrada na Figura 13.5a e na **Figura 13.11**. O tamanho de seu DNA corresponde a apenas cerca de 6% do DNA de uma bactéria *E. coli*, ainda que esse DNA seja suficiente para codificar mais de 100 genes. O ciclo de multiplicação desses vírus, assim como o de todos os outros vírus, ocorre em cinco etapas distintas: adsorção, penetração, biossíntese, maturação e liberação.

Adsorção. ❶ Após uma colisão ao acaso entre as partículas do fago e as bactérias, a *adsorção*, ou *ancoragem*, ocorre. Durante esse processo, um sítio de adsorção no vírus se liga ao sítio do receptor complementar na parede da célula bacteriana. Essa ligação consiste em uma interação química, na qual se formam ligações fracas entre o sítio de adsorção e o receptor celular. Os bacteriófagos T-pares possuem fibras na extremidade da cauda que servem como sítios de adsorção. Os receptores complementares estão na parede da célula bacteriana.

Penetração. ❷ Após a adsorção, os bacteriófagos T-pares injetam seu DNA (ácido nucleico) dentro da bactéria. Para isso, a cauda do bacteriófago libera uma enzima, a **lisozima**, que destrói uma porção da parede celular bacteriana. Durante o processo de *penetração*, a bainha da cauda do fago se contrai, e o centro da cauda atravessa a parede da célula bacteriana. Quando o centro alcança a membrana plasmática, o DNA da cabeça do fago penetra na bactéria, passando através do lúmen da cauda e da membrana plasmática. O capsídeo permanece do lado de fora da célula bacteriana. Portanto, a partícula do fago funciona como uma seringa hipodérmica injetando o DNA dentro da célula bacteriana.

Biossíntese. ❸ Assim que o DNA do bacteriófago alcança o citoplasma da célula hospedeira, ocorre a biossíntese do ácido nucleico e das proteínas virais. A síntese proteica do hospedeiro é interrompida pela degradação do seu DNA induzida pelo vírus, pela ação de proteínas virais que interferem com a transcrição, ou pela inibição da tradução.

Inicialmente, o fago utiliza várias enzimas e os nucleotídeos da célula hospedeira para sintetizar cópias do seu DNA. Logo a seguir tem início a biossíntese das proteínas virais. Todo o RNA transcrito na célula corresponde a mRNA transcrito a partir do DNA do fago para a síntese de enzimas virais e das proteínas do capsídeo viral. Os ribossomos, as enzimas e os aminoácidos da célula hospedeira são usados na tradução. Durante o ciclo de multiplicação do fago, controles gênicos regulam a transcrição de regiões diferentes do DNA. Por exemplo, mensagens precoces são traduzidas em proteínas virais precoces, que são as enzimas usadas na síntese do DNA do fago. Da mesma forma, mensagens tardias são traduzidas em proteínas tardias, utilizadas na síntese do capsídeo viral.

Por um período de vários minutos após a infecção, fagos completos não são encontrados na célula hospedeira. Somente componentes isolados – DNA e proteína – podem ser detectados. Esse período da multiplicação viral, no qual vírions completos e infectivos ainda não estão formados, é denominado **período de eclipse**.

Maturação. ❹ A próxima sequência de eventos consiste na *maturação*. Durante esse processo, vírions completos são formados a partir do DNA e dos capsídeos. Os componentes virais se organizam espontaneamente, formando a partícula viral e eliminando a necessidade de muitos genes não estruturais e de outros produtos gênicos. As cabeças e as caudas dos fagos são montadas separadamente a partir de subunidades de proteínas: a cabeça recebe o DNA viral e se liga à cauda.

Liberação. ❺ O estágio final da multiplicação viral é a liberação dos vírions da célula hospedeira. O termo **lise** geralmente é utilizado para essa etapa da multiplicação dos fagos T-pares, pois, nesse caso, a membrana citoplasmática é rompida (lise). A lisozima, codificada por um gene viral, é sintetizada dentro da célula. Essa enzima destrói a parede celular bacteriana, liberando os novos bacteriófagos produzidos. Os fagos liberados infectam outras células suscetíveis vizinhas, e o ciclo de multiplicação viral é repetido dentro dessas células.

Bacteriófago lambda (λ): o ciclo lisogênico

Em contraste aos bacteriófagos T-pares, alguns vírus não causam lise e morte celular quando se multiplicam na célula hospedeira. Esses *fagos lisogênicos* (também denominados *fagos temperados*) podem induzir um ciclo lítico, entretanto são capazes de incorporar seu DNA ao DNA da célula hospedeira para iniciar um ciclo lisogênico. Na **lisogenia**, o fago permanece latente (inativo). As células bacterianas hospedeiras são conhecidas como *células lisogênicas*.

Utilizaremos o exemplo do bacteriófago λ (lambda), um fago lisogênico bem estudado, como exemplo de ciclo lisogênico (**Figura 13.12**).

❶ Após a penetração em uma célula de *E. coli*,
❷ o DNA do fago, originalmente linear, forma um círculo.
3A Esse círculo pode se multiplicar e ser transcrito,
4A levando à produção de novos fagos e à lise celular (ciclo lítico).
3B Alternativamente, o círculo pode se recombinar com o DNA bacteriano circular e se tornar parte dele (ciclo lisogênico). O DNA do fago inserido na célula passa a ser chamado de **profago**. A maioria dos genes do profago é reprimida por duas proteínas repressoras codificadas pelo genoma do profago. Esses repressores ligam-se aos operadores e interrompem a transcrição de todos os outros genes do fago. Dessa maneira, os genes do fago que poderiam direcionar a síntese e a liberação de novos vírions são desligados, da mesma forma que são desligados os genes de *E. coli* comandados pelo operon *lac* quando ligado ao repressor *lac* (Figura 8.12, página 224).

Sempre que a maquinaria celular replicar o cromossomo bacteriano,

4B o DNA do profago também será replicado. O profago permanece latente na progênie celular.
❺ Entretanto, um evento espontâneo raro ou mesmo a ação da luz UV ou de determinadas substâncias químicas pode levar à excisão do DNA do profago e ao início do ciclo lítico.

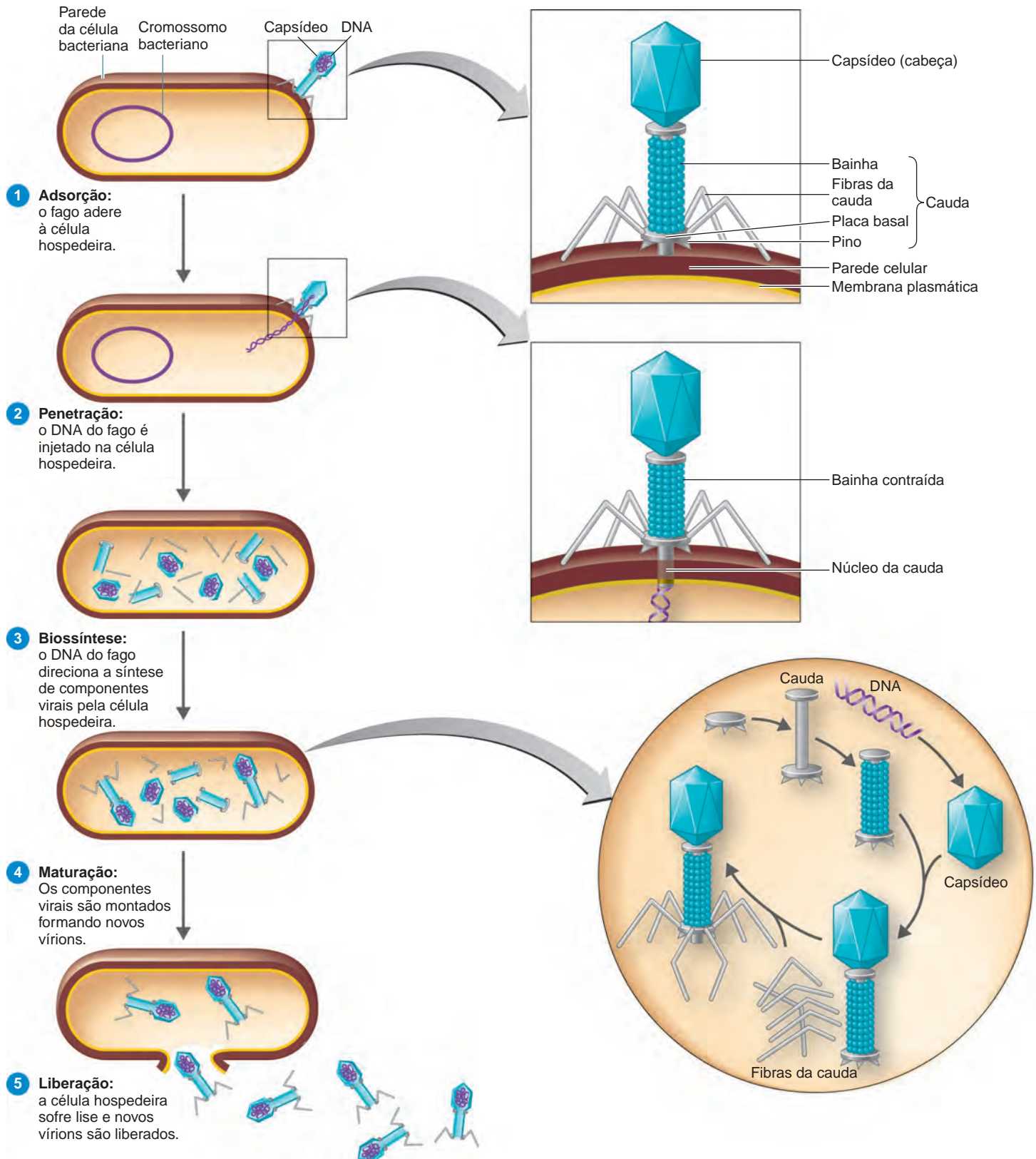



Figura 13.11 O ciclo lítico de um bateriófago T-par.

P Qual é o resultado de um ciclo lítico?

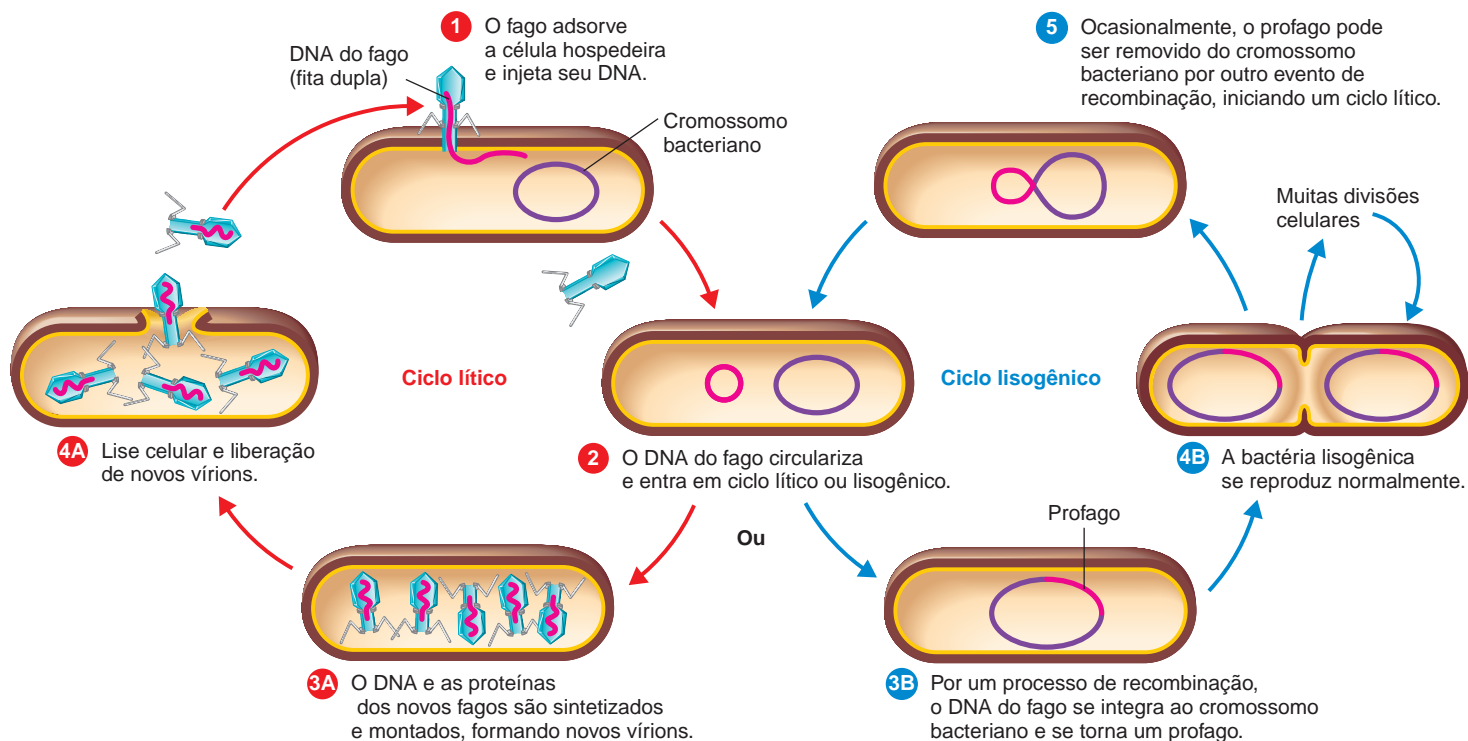



Figura 13.12 **O ciclo lisogênico do bacteriófago λ em *E. coli*.**

P Quais são as diferenças entre o ciclo lisogênico e o ciclo lítico?

A lisogenia apresenta três consequências importantes. Em primeiro lugar, as células lisogênicas são imunes à reinfecção pelo mesmo fago (entretanto, não são imunes à infecção por outros tipos de fagos). A segunda consequência é que as células hospedeiras podem exibir novas propriedades, o que é conhecido como **conversão**. Por exemplo, a bactéria *Corynebacterium diphtheriae*, que causa a difteria, é um patógeno cujas características promotoras da doença são relacionadas à síntese de uma toxina. Essa bactéria só pode produzir toxina quando possui um fago temperado, pois o gene que codifica para a toxina está no profago. Em um outro exemplo, somente os estreptococos que carregam um fago lisogênico ou temperado são capazes de produzir a toxina relacionada com a síndrome do choque tóxico. A toxina produzida pelo *Clostridium botulinum*, a bactéria que causa o botulismo, é codificada por um gene do profago, assim como a toxina Shiga, que é produzida por cepas patogênicas de *E. coli*.

A terceira consequência da lisogenia é que ela torna possível a **transdução especializada**. No Capítulo 8 foi visto que os genes bacterianos podem ser empacotados em um capsídeo de fago e transferidos para outra bactéria por um processo chamado de transdução generalizada (veja a Figura 8.28, página 239). Qualquer gene bacteriano pode ser transferido por esse processo porque o cromossomo do hospedeiro está fragmentado em pedaços que podem ser empacotados em um capsídeo de fago. Entretanto, na transdução especializada, somente determinados genes bacterianos podem ser transferidos.

A transdução especializada é mediada por um fago lisogênico, que empacota o DNA bacteriano *junto* com seu próprio DNA no mesmo capsídeo. Quando um profago é excisado do cromossomo bacteriano, genes adjacentes de ambos os lados podem permancer ligados ao DNA do fago. Na **Figura 13.13**, o bacteriófago λ carrega, de seu hospedeiro galactose-positivo, o gene *gal*, responsável pela fermentação da galactose. O fago transfere esse gene para uma célula galactose-negativa, tornando-a galactose--positiva.

Certos vírus animais podem sofrer processos muito semelhantes à lisogenia. Os vírus animais que permanecem latentes por longos períodos dentro das células, sem se multiplicarem ou sem causarem doenças, podem estar inseridos no cromossomo da célula hospedeira ou permanecer separados, mas estar em um estado reprimido (como alguns fagos lisogênicos). Vírus que causam câncer também podem estar latentes, como será discutido mais adiante neste capítulo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como os bacteriófagos sintetizam nucleotídeos e aminoácidos se não possuem nenhuma enzima metabólica? **13-8**

✓ A bactéria *Vibrio cholerae* produz toxina e é capaz de causar a cólera somente quando está lisogênica. O que isso significa? **13-9**

Multiplicação de vírus animais

A multiplicação dos vírus animais segue o padrão básico da multiplicação dos bacteriófagos, mas com várias diferenças, resumidas na **Tabela 13.3.** Os vírus animais diferem dos fagos no seu mecanismo de penetração dentro da célula hospedeira. Além disso, uma

vez dentro da célula, a síntese e a montagem de novos componentes virais são ligeiramente diferentes, em parte devido às diferenças entre as células procarióticas e eucarióticas. Os vírus animais possuem determinados tipos de enzimas que não são encontrados nos fagos. Finalmente, os vírus animais e os fagos diferem quanto aos mecanismos de maturação e liberação e quanto aos efeitos de sua multiplicação na célula hospedeira.

Na discussão que se segue sobre a multiplicação de vírus animais, consideraremos os processos comuns aos vírus de DNA e de RNA. Esses processos são adsorção, penetração, desnudamento e liberação. Examinaremos também as diferenças entre os dois tipos de vírus, com relação aos processos de biossíntese.

Adsorção

Como os bacteriófagos, os vírus animais possuem sítios de adsorção que se ligam a sítios receptores na superfície da célula hospedeira. No entanto, os receptores das células animais são proteínas e glicoproteínas da membrana plasmática. Além disso, os vírus animais não possuem apêndices como as fibras da cauda de alguns bacteriófagos. Nos vírus animais, os sítios de ligação estão distribuídos por toda a superfície da partícula viral. Esses sítios variam de acordo com os diferentes grupos de vírus. Nos adenovírus, que são vírus icosaédricos, são pequenas fibras nos vértices do icosaedro (veja a Figura 13.2b). Na maioria dos vírus envelopados, como o vírus influenza, os sítios de adsorção são espículas localizadas na superfície do envelope (veja a Figura 13.3b). Logo que uma espícula se liga ao receptor da célula hospedeira, sítios receptores adicionais migram em direção ao vírus. A ligação de muitos sítios completa o processo de adsorção.

Os sítios receptores são características genéticas do hospedeiro. Consequentemente, o receptor para um determinado vírus pode variar de pessoa para pessoa. Isso pode explicar as diferenças individuais na suscetibilidade a um vírus em particular. Por exemplo, pessoas que não possuem o receptor celular para o parvovírus B19 (denominado antígeno P) são naturalmente resistentes à infecção e não desenvolvem a quinta doença causada por esse vírus (veja a página 600). O entendimento da natureza do processo de adsorção pode levar ao desenvolvimento de drogas que previnam as infecções virais. Anticorpos monoclonais (discutidos no Capítulo 17) que se ligam aos sítios de adsorção dos vírus ou a receptores celulares poderão, em breve, ser usados no tratamento de algumas infecções virais.

Penetração

Após a adsorção, ocorre a penetração. Nas células eucarióticas, os vírus penetram pelo processo de **pinocitose**, que é um processo celular ativo através do qual nutrientes e outras moléculas entram na célula (Capítulo 4, página 100). A membrana plasmática celular está constantemente sofrendo invaginações para formar vesículas. Essas vesículas contêm elementos originados do exterior da célula e que são levados para o seu interior para serem digeridos. Se um vírus se ligar a uma evaginação da membrana plasmática de uma célula hospedeira em potencial, esta envolverá o vírus, formando uma vesícula (**Figura 13.14a**).

Os vírus envelopados podem penetrar no interior da célula por um processo alternativo denominado **fusão**, no qual o envelope viral se funde com a membrana plasmática e libera o capsídeo

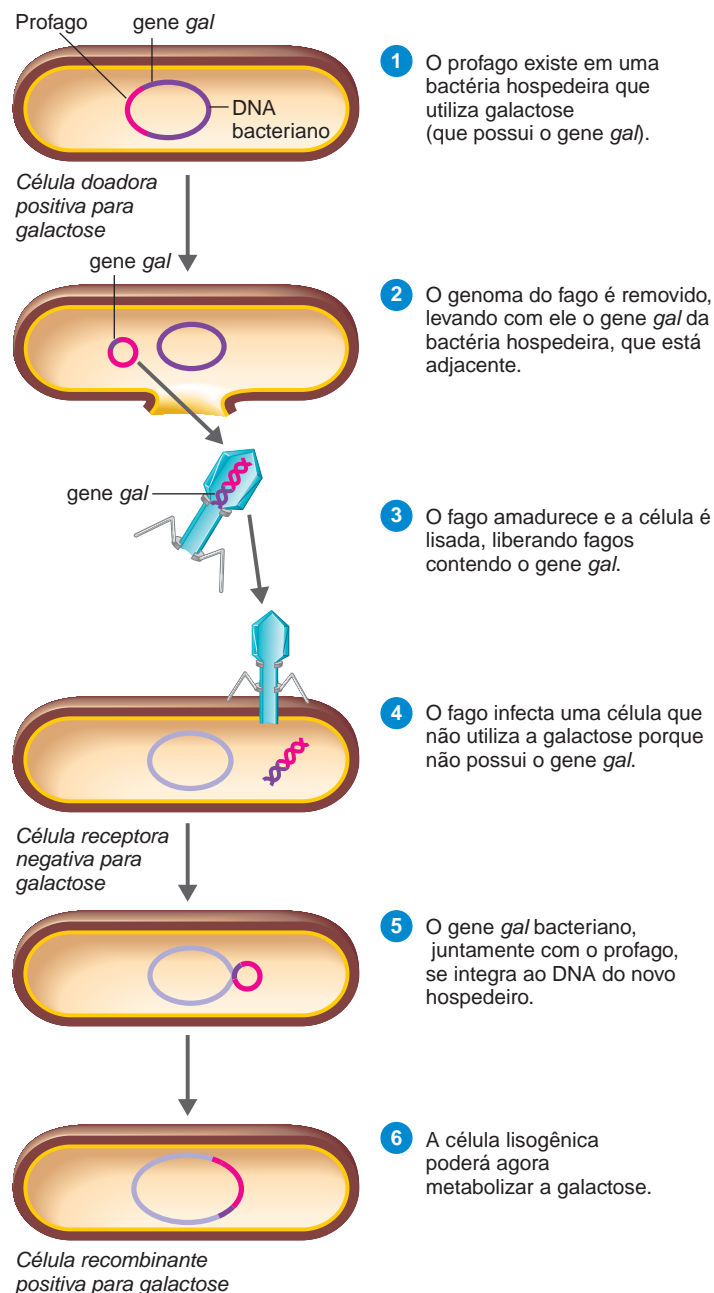



Figura 13.13 **Transdução especializada.** Quando o profago é excisado do cromossomo bacteriano, pode carregar um pedaço do DNA adjacente a ele no cromossomo bacteriano.

P **Quais são as diferenças entre a transdução especializada e o ciclo lítico?**

no citoplasma. Esse é o método pelo qual o HIV penetra na célula (**Figura 13.14b**).

Desnudamento

Durante o período de eclipse da infecção viral, os vírus são desmontados e não são observadas partículas virais dentro da célula. O **desnudamento** consiste na separação do ácido nucleico viral de

Tabela 13.3 Comparação entre a multiplicação dos bacteriófagos e dos vírus animais

Estágio	Bacteriófagos	Vírus animais
Adsorção	As fibras da cauda ancoram nas proteínas da parede celular	Os sítios de adsorção são proteínas e glicoproteínas da membrana plasmática
Penetração	O DNA viral é injetado dentro da célula	O capsídeo penetra por endocitose ou por fusão
Desnudamento	Desnecessário	Remoção enzimática das proteínas do capsídeo
Biossíntese	No citoplasma	No núcleo (vírus com genoma DNA) ou citoplasma (vírus com genoma RNA)
Infecção crônica	Lisogenia	Latência; infecções virais lentas; câncer
Liberação	Lise da célula hospedeira	Os vírus envelopados brotam; os não envelopados rompem a membrana plasmática

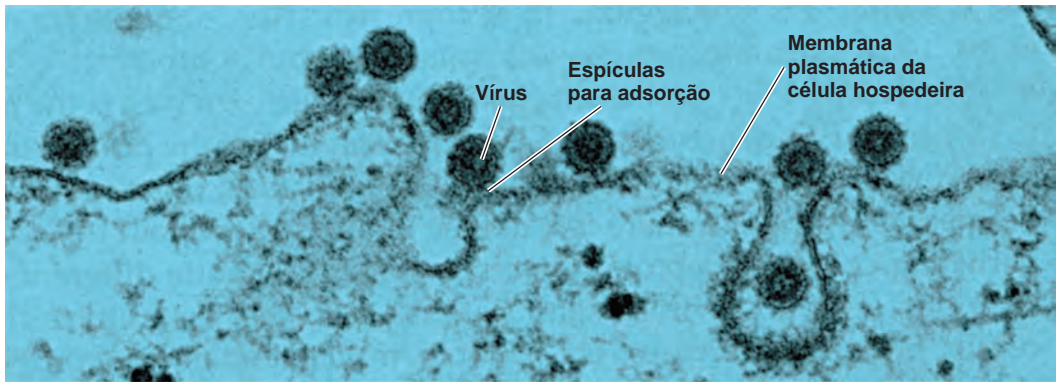
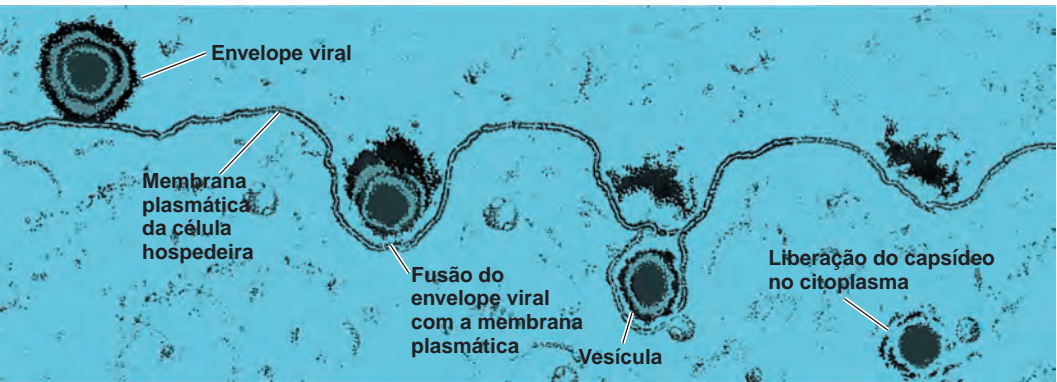
seu envoltório proteico. Uma vez que o vírion está dentro de uma vesícula endocítica, o capsídeo é digerido quando a célula tenta digerir o conteúdo vesicular. Nos vírus não envelopados, o capsídeo pode ser liberado dentro do citoplasma da célula hospedeira. Esse processo varia de acordo com o tipo de vírus. Alguns vírus animais concluem o processo de desnudamento por ação de enzimas lisossomais da célula hospedeira. Essas enzimas degradam o capsídeo viral. O desnudamento dos poxvírus é concluído por uma enzima específica codificada pelo genoma viral e sintetizada imediatamente após a infecção. Em outros vírus, o desnudamento parece envolver exclusivamente enzimas do citoplasma da célula hospedeira. Pelo menos para um vírus, o poliovírus, o desnudamento começa

(a) Penetração de togavírus por pinocitose

(b) Penetração de herpesvírus por fusão

Figura 13.14 A entrada dos vírus nas células hospedeiras. Após a adsorção, os vírus penetram na célula hospedeira por **(a)** pinocitose ou **(b)** fusão.

P Em quais processos do ciclo de replicação viral a célula é ativamente controlada pelo vírus?

enquanto o vírus ainda está ancorado à membrana plasmática da célula hospedeira.

A biossíntese dos vírus de DNA

Geralmente, os vírus de DNA replicam seu genoma no núcleo da célula hospedeira usando enzimas virais e sintetizam as proteínas do capsídeo e outras proteínas no citoplasma, usando enzimas do hospedeiro. As proteínas migram, então, para o núcleo e são reunidas com o DNA recém-sintetizado para formar os novos vírions. Os vírions são transportados pelo retículo endoplasmático para a membrana da célula hospedeira e são liberados. Os herpesvírus, os papovavírus, os adenovírus e os hepadnavírus seguem esse padrão de biossíntese (**Tabela 13.4**). Os poxvírus são uma exceção, pois todos os seus componentes são sintetizados no citoplasma.

A **Figura 13.15** mostra a sequência de eventos da multiplicação dos papovavírus, como exemplo de multiplicação de um vírus de DNA.

1-2 Após a adsorção, a penetração e o desnudamento, o DNA viral é liberado no núcleo da célula hospedeira.

3 A seguir ocorre a transcrição de uma porção do DNA viral que codifica os "genes precoces", seguida da sua tradução. Os produtos desses genes são enzimas requeridas para a multiplicação do DNA viral. Na maioria dos vírus de DNA, a transcrição precoce é realizada pela transcriptase do hospedeiro (RNA-polimerase); os poxvírus, no entanto, possuem sua própria transcriptase.

4 Algum tempo após o início da replicação do DNA, ocorre a transcrição e a tradução dos genes "tardios". As proteínas tardias incluem as proteínas do capsídeo e outras proteínas estruturais.

5 Isso leva à síntese das proteínas do capsídeo, que ocorre no citoplasma da célula hospedeira.

6 Após a migração das proteínas do capsídeo para o núcleo celular, ocorre a maturação; o DNA viral e as proteínas do capsídeo se montam para formar os vírus completos.

7 Os vírus completos são, então, liberados da célula hospedeira.

Alguns vírus que possuem genoma de DNA são descritos a seguir.

Adenoviridae. Nomeados com referência às adenoides, local de onde foram isolados pela primeira vez, os adenovírus causam doenças respiratórias agudas – o resfriado comum (**Figura 13.16a**).

Poxviridae. Todas as doenças causadas pelos poxvírus, entre elas a varíola humana e a varíola bovina (*Cowpox*), apresentam lesões cutâneas (veja a Figura 21.10, página 595). A palavra *Pox* se refere a lesões pustulares. A multiplicação viral é iniciada pela transcriptase viral; os componentes virais são sintetizados e montados no citoplasma da célula hospedeira.

Herpesviridae. São conhecidos aproximadamente 100 tipos de herpesvírus (**Figura 13.16b**). São assim denominados por causa do aspecto disseminado (*herpético*) das úlceras do herpes labial. Entre as espécies dos herpesvírus humanos (HHV, de *human herpesvirus*) estão as que causam o herpes labial (HHV-1 e HHV-2, ambos pertencentes ao gênero *Simplexvirus*); o HHV-3, gênero *Varicellovirus*, que causa a catapora; o HHV-4, ou vírus Epstein-Barr (gênero *Lymphocryptovirus*), que causa a mononucleose infecciosa; o HHV-5 (gênero *Cytomegalovirus*); o HHV-6, gênero *Roseolovirus,* que causa a roséola; o HHV-7, que infecta principalmente crianças, causando um exantema semelhante ao sarampo; e o HHV-8, que é associado ao sarcoma de Kaposi, principalmente em pacientes com Aids.

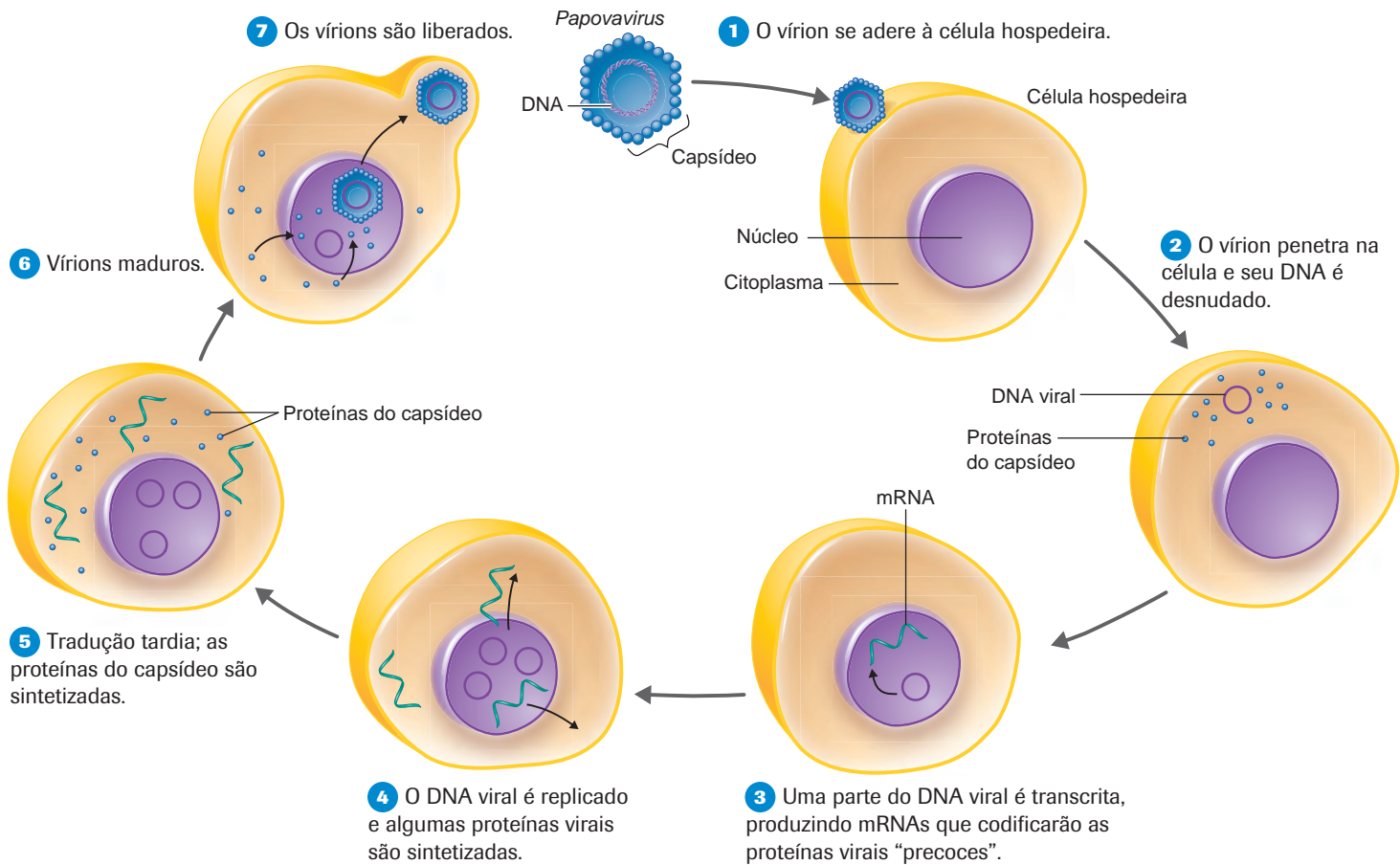
Papovaviridae. Os papovavírus têm seu nome derivado de *pa*pilomas ou verrugas, *po*liomas (tumores) e *va*cuolização (vacúolos citoplasmáticos produzidos por alguns desses vírus). As verrugas são causadas por membros do gênero *Papillomavirus*. Algumas espécies do gênero *Papillomavirus* são capazes de transformar células e causar câncer.

Tabela 13.4 Comparação entre a biossíntese dos vírus DNA e RNA

Ácido nucleico viral	Família viral	Características especiais da biossíntese
DNA, fita simples	*Parvoviridae*	Enzimas celulares transcrevem o DNA viral no núcleo.
DNA, fita dupla	*Herpesviridae* *Papovaviridae*	Enzimas celulares transcrevem o DNA viral no núcleo.
	Poxviridae	Enzimas virais transcrevem o DNA viral no vírion, no citoplasma.
DNA, transcriptase reversa	*Hepadnaviridae*	Enzimas celulares transcrevem o DNA viral no núcleo; a transcriptase reversa copia o mRNA para sintetizar o DNA viral.
RNA, fita positiva	*Picornaviridae* *Togaviridae*	O RNA viral funciona como molde para a síntese da RNA-polimerase viral.
RNA, fita negativa	*Rhabdoviridae*	Enzimas virais sintetizam mRNA no citoplasma utilizando o RNA viral como molde.
RNA, fita dupla	*Reoviridae*	Enzimas virais sintetizam mRNA no citoplasma utilizando a fita negativa de RNA como molde.
RNA, transcriptase reversa	*Retroviridae*	A transcriptase reversa sintetiza DNA no citoplasma utilizando o RNA viral como molde; o RNA se desloca para o núcleo.

Figura 13.15

FIGURA FUNDAMENTAL Replicação de um vírus animal contendo DNA

Esta figura ilustra o ciclo de replicação dos vírus que contêm DNA, usando como exemplo um *papovavirus*. O conhecimento das fases da replicação viral é importante nas estratégias de desenvolvimento de drogas e na patologia da doença, discutidos em capítulos posteriores. O DNA viral é replicado no núcleo celular juntamente com os cromossomos da célula hospedeira. As células hospedeiras podem proliferar, resultando em um tumor.

Conceito-chave

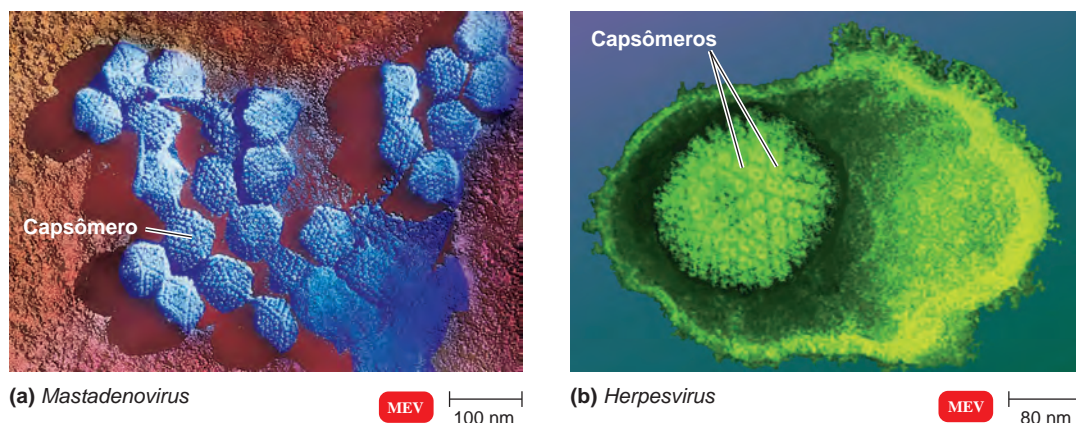
A replicação de todos os vírus animais compreende a seguinte sequência de eventos: adsorção, penetração, desnudamento, biossíntese de ácido nucleico e proteínas, maturação e liberação.

Hepadnaviridae. Os hepadnavírus são assim designados por serem capazes de causar *hepa*tite e por conterem *DNA* (Figura 25.15, página 725). O único gênero dessa família causa a hepatite B. (Os vírus que causam as hepatites A, C, D, E, F e G, embora não sejam relacionados entre si, são vírus de RNA. A hepatite é discutida no Capítulo 25.) Os hepadnavírus diferem de outros vírus de DNA pelo fato de sintetizarem o seu DNA a partir de RNA, usando a transcriptase reversa viral. Essa enzima é discutida mais adiante, juntamente com os retrovírus, outra família que possui a transcriptase reversa.

(a) *Mastadenovirus* MEV 100 nm

(b) *Herpesvirus* MEV 80 nm

Figura 13.16 Vírus animais contendo DNA. (a) Coloração negativa de adenovírus concentrados por centrifugação em gradiente. Os capsômeros individuais são claramente visíveis. **(b)** O envelope circundando o capsídeo de um vírus herpes simples se rompeu, dando a aparência típica de "ovo frito".

P Qual a morfologia desses vírus?

A biossíntese dos vírus de RNA

Os vírus de RNA multiplicam-se, essencialmente, da mesma forma que os vírus de DNA, exceto que os vários grupos de vírus de RNA utilizam diferentes mecanismos de síntese de mRNA (veja a Tabela 13.4). Embora os detalhes desses mecanismos estejam fora do objetivo deste texto, os ciclos de multiplicação de quatro tipos de vírus de RNA serão descritos com um propósito comparativo (três dos quais são apresentados na **Figura 13.17**). Os vírus de RNA se multiplicam no citoplasma da célula hospedeira. As principais diferenças entre os processos de multiplicação desses vírus residem na forma como o mRNA e o RNA viral são produzidos. Após a síntese do RNA e das proteínas virais, o processo de maturação ocorre de maneira similar a todos os outros vírus animais, como será discutido resumidamente.

Picornaviridae. Os picornavírus, como os poliovírus (veja o Capítulo 22, página 620), são vírus de RNA de fita simples. São os menores vírus conhecidos; o prefixo *pico-* (pequeno) mais *RNA* dá o nome a esses vírus. O RNA do vírion é identificado como **fita senso** (ou **fita positiva**), porque pode funcionar como mRNA. Após a adsorção, a penetração e o desnudamento, a fita simples do RNA viral (**Figura 13.17a**) é traduzida em duas proteínas principais, que inibem a síntese de RNA e das proteínas da célula hospedeira e sintetizam uma enzima chamada de *RNA-polimerase dependente de RNA*. Essa enzima catalisa a síntese de outra fita de RNA, que é complementar à sequência de bases da fita infectiva original. Essa nova fita, denominada **fita antissenso** (ou **fita negativa**), serve como molde para a produção de fitas positivas adicionais. As fitas positivas podem servir como mRNA para a tradução das proteínas do capsídeo, podem se incorporar a elas para formar novos vírus, ou podem servir como molde para a continuação da multiplicação do RNA viral. O processo de maturação ocorre após a síntese do RNA viral e das proteínas virais.

Togaviridae. Os togavírus, entre os quais se incluem os alfavírus e os arbovírus, que são vírus transmitidos por artrópodes (veja o Capítulo 22, página 624), também contêm RNA de fita simples positiva. Os togavírus são vírus envelopados, e seu nome deriva da palavra latina *toga*, que significa cobertura. Lembre-se de que esses não são os únicos vírus envelopados. Após a síntese de uma fita de RNA negativa a partir de uma fita de RNA positiva, dois tipos de mRNA são sintetizados a partir da fita negativa. Um tipo de mRNA consiste de uma fita curta que codifica as proteínas do envelope; o outro tipo é uma fita mais longa que serve como mRNA para a tradução das proteínas do capsídeo e é incorporada ao capsídeo.

Rhabdoviridae. Os rabdovírus, como o vírus da raiva (gênero *Lyssavirus*; veja o Capítulo 22, página 622), geralmente possuem a forma de um projétil (**Figura 13.18a**). *Rabdo* deriva do grego e significa bastão, o que, na verdade, não corresponde a uma descrição precisa da sua morfologia. Eles contêm uma fita simples negativa de RNA (**Figura 13.17b**). Eles também contêm uma RNA-polimerase dependente de RNA que usa a fita negativa como molde para a síntese de fitas positivas. As fitas positivas servirão como mRNA e como molde para a síntese de novas moléculas de RNA viral.

Reoviridae. Os reovírus foram assim denominados de acordo com os ambientes em que foram encontrados: os sistemas respiratório e entérico (digestório) dos seres humanos. Quando foram descobertos, não foram associados a nenhuma doença, sendo considerados vírus órfãos. Atualmente são conhecidos três sorotipos capazes de causar infecções nos tratos respiratório e intestinal.

O capsídeo contendo o RNA de fita dupla é digerido após a penetração na célula hospedeira. O mRNA viral é produzido no citoplasma, onde é utilizado para sintetizar novas proteínas virais (**Figura 13.17c**). Uma das proteínas virais recém-sintetizada atua como uma RNA-polimerase dependente de RNA para a produção de novas fitas negativas de RNA. As fitas positivas e negativas de mRNA formam uma fita dupla, que será então envolta pelo capsídeo.

Retroviridae. Muitos retrovírus infectam vertebrados (**Figura 13.18b**). Um gênero dos retrovírus, os *Lentivirus*, inclui as subespécies HIV-1 e HIV-2, que causam a Aids (veja o Capítulo 19, páginas 539 a 548). Os retrovírus que causam câncer serão discutidos mais adiante neste capítulo.

A formação do mRNA e do RNA de novos vírions é mostrada na **Figura 13.19**, página 390. Esses vírus contêm uma enzima, a

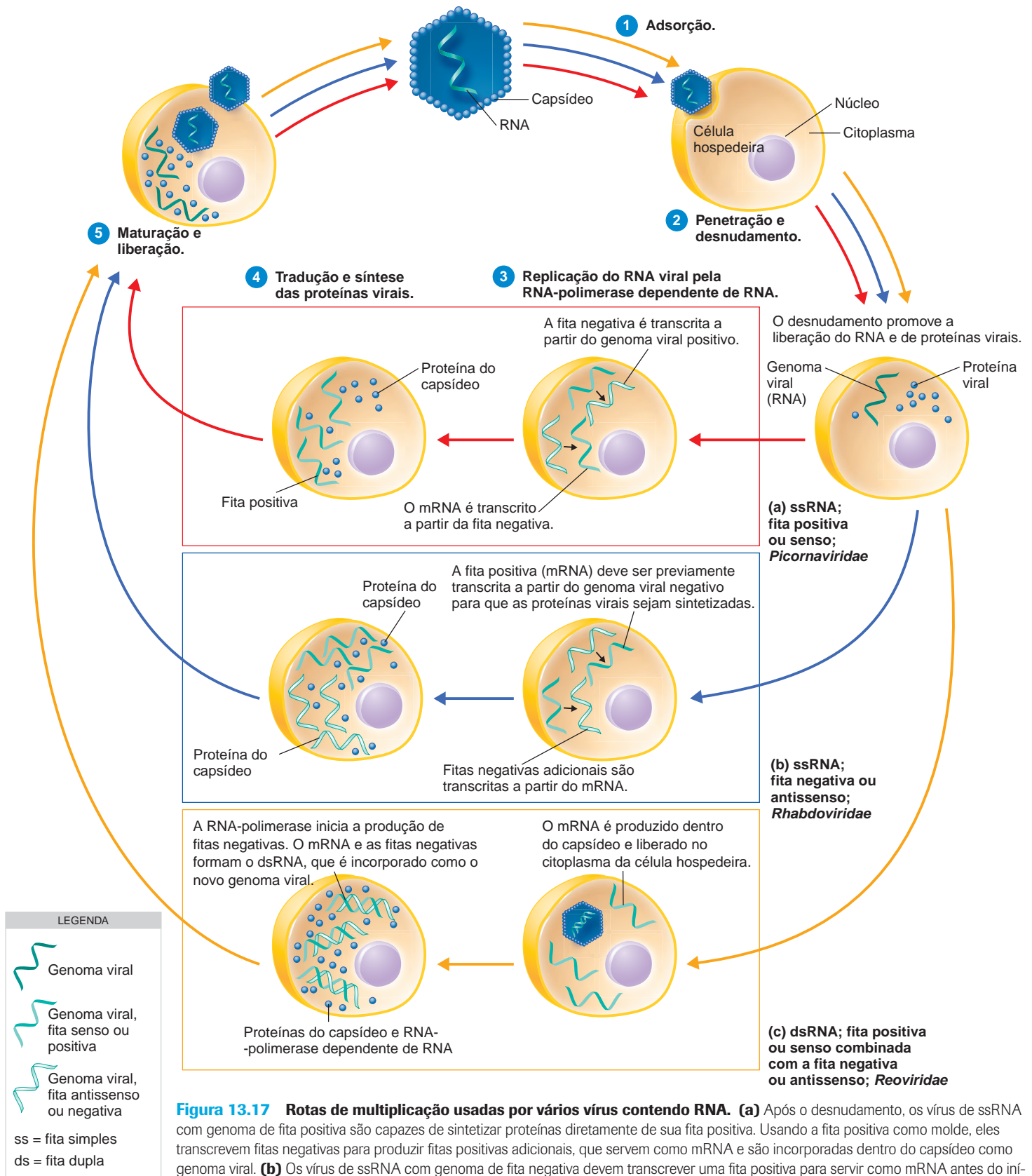



Figura 13.17 **Rotas de multiplicação usadas por vários vírus contendo RNA.** **(a)** Após o desnudamento, os vírus de ssRNA com genoma de fita positiva são capazes de sintetizar proteínas diretamente de sua fita positiva. Usando a fita positiva como molde, eles transcrevem fitas negativas para produzir fitas positivas adicionais, que servem como mRNA e são incorporadas dentro do capsídeo como genoma viral. **(b)** Os vírus de ssRNA com genoma de fita negativa devem transcrever uma fita positiva para servir como mRNA antes do início da síntese das proteínas virais. O mRNA transcreve fitas negativas adicionais para serem incorporadas ao capsídeo viral. Os vírus ssRNA, assim como **(c)** os vírus dsRNA, devem usar o mRNA (fita positiva) para codificar suas proteínas, inclusive as proteínas do capsídeo.

P **Por que a fita negativa de RNA é sintetizada pelos picornavírus e pelos reovírus? E pelos rabdovírus?**

transcriptase reversa, que utiliza o RNA viral como molde para a síntese de um DNA de fita dupla complementar. Essa enzima também degrada o RNA viral original. O nome *retrovírus* deriva das letras iniciais de transcriptase reversa (*reverse transcriptase*). O DNA viral é então integrado ao cromossomo da célula hospedeira como um **provírus**. Diferente do profago, o provírus nunca é removido do cromossomo. Na forma de provírus, o HIV é protegido do sistema imune do hospedeiro e de drogas antivirais.

Algumas vezes o provírus simplesmente permanece em estado latente e se replica somente quando o DNA da célula hospedeira é replicado. Em outros casos, o provírus é expresso e produz novos vírus, que podem infectar células adjacentes. Agentes mutagênicos como a radiação gama podem induzir a expressão de um provírus. O provírus também pode, no caso dos retrovírus oncogênicos, converter a célula hospedeira em uma célula tumoral. Os possíveis mecanismos para esse fenômeno serão discutidos mais adiante.

Maturação e liberação

A montagem do capsídeo proteico constitui o primeiro passo no processo de maturação viral. Essa montagem em geral é um processo espontâneo. Os capsídeos de muitos vírus animais são envoltos por um envelope formado de proteínas, lipídeos e carboidratos, conforme mencionado anteriormente. Exemplos incluem os ortomixovírus e os paramixovírus. As proteínas do envelope são codificadas por genes virais e são incorporadas à membrana plasmática da célula hospedeira. Os lipídeos e os carboidratos são sintetizados pelas células e estão presentes na membrana plasmática. Quando o vírus deixa a célula por um processo denominado **brotamento**, o capsídeo viral adquire o envelope (**Figura 13.20**).

Após a sequência de adsorção, penetração, desnudamento e biossíntese do ácido nucleico e das proteínas virais, o capsídeo montado brota, empurrando a membrana plasmática. Como resultado, uma parte da membrana, que agora é o envelope, se adere ao vírus. Essa extrusão do vírus de uma célula hospedeira é um dos métodos de liberação. O brotamento não mata a célula hospedeira imediatamente e, em alguns casos, a célula sobrevive.

Os vírus não envelopados são liberados por meio de rupturas na membrana plasmática. Ao contrário do brotamento, esse tipo de liberação geralmente resulta na morte da célula hospedeira.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Descreva os principais eventos dos processos de adsorção, penetração, desnudamento, biossíntese, maturação e liberação de um vírus de DNA envelopado. **13-10**

(a) Um rabdovírus

(b) Um retrovírus

Figura 13.18 **Vírus animais contendo RNA.** **(a)** Partículas do vírus da estomatite vesicular, um membro da família *Rhabdoviridae*. **(b)** Vírus do tumor de mama de camundongos, um membro da família *Retroviridae* que causa tumor em camundongos.

P **Por que os vírus com RNA de fita positiva sintetizam um RNA de fita negativa?**

Vírus e câncer

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

13-11 Definir oncogene e célula transformada.

13-12 Discutir a relação entre os vírus contendo DNA e RNA e câncer.

Sabe-se hoje que muitos tipos de câncer são causados por vírus. As pesquisas em Biologia Molecular mostram que os mecanismos da doença são semelhantes, mesmo quando um vírus não causa o câncer.

A relação entre câncer e vírus foi inicialmente demonstrada em 1908, quando os virologistas Wilhelm Ellerman e Olaf Bang, trabalhando na Dinamarca, tentaram isolar o vírus causador da leucemia aviária. Eles descobriram que a leucemia podia ser transmitida para aves sadias por meio de filtrados livres de células que continham vírus. Três anos depois, F. Peyton Rous, trabalhando no Instituto Rockefeller em Nova York, descobriu que um **sarcoma** de galinhas (câncer do tecido conjuntivo) podia ser transmitido de maneira similar. Os **adenocarcinomas** induzidos por vírus (câncer do tecido epitelial glandular) foram descobertos em 1936, em camundongos. Nessa época, foi claramente demonstrado que tumores de glândula mamária de camundongos eram transmitidos das mães para as

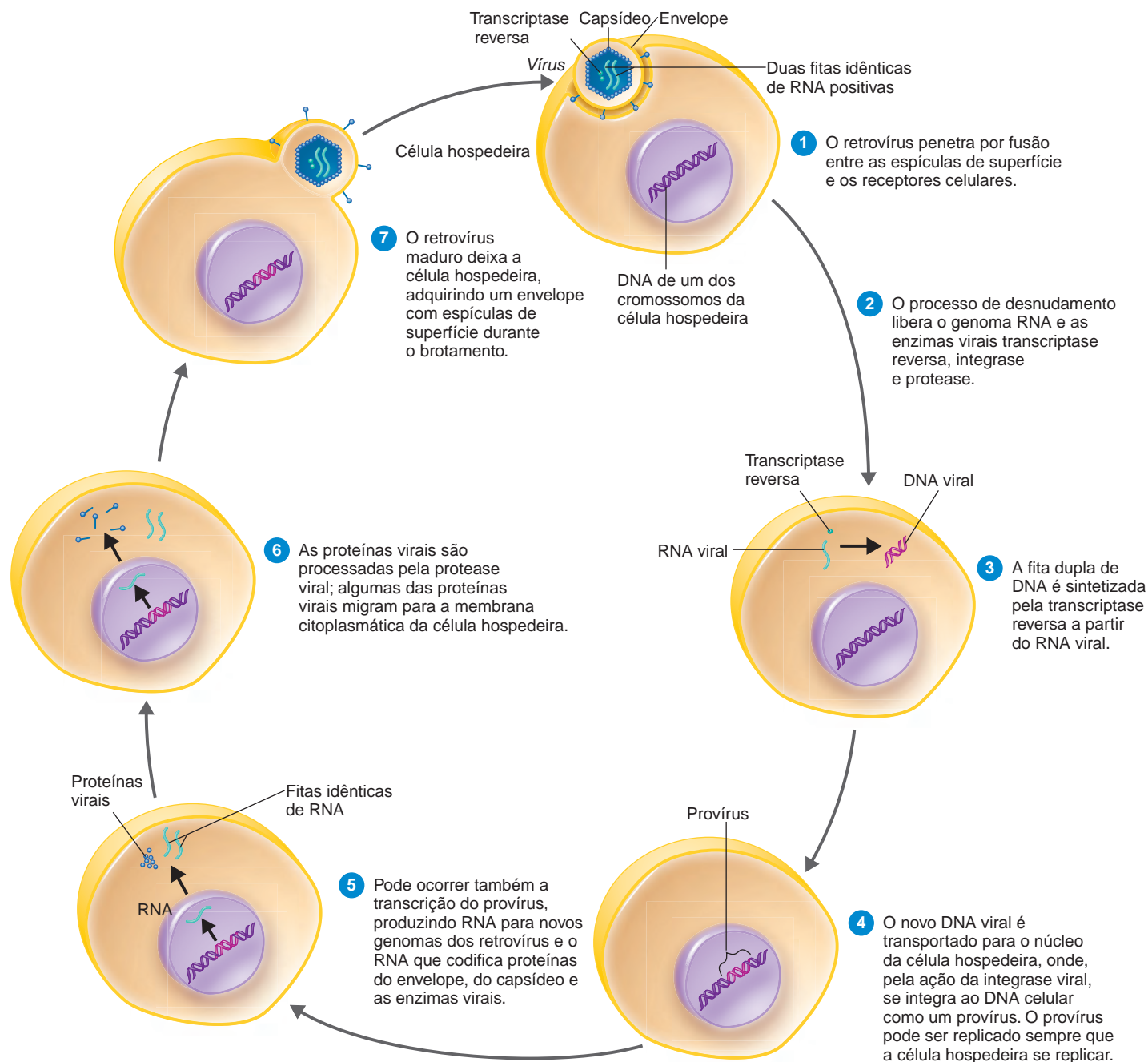



Figura 13.19 Processos de multiplicação e manutenção dos retrovírus. Um retrovírus pode se tornar um provírus que replica em estado latente, podendo também produzir novos retrovírus.

P Quais as diferenças entre a biossíntese de um retrovírus e a de outros vírus de RNA?

crias, através do leite materno. Um vírus capaz de causar câncer em seres humanos foi descoberto e isolado em 1972 pela bacteriologista norte-americana Sarah Stewart.

A origem viral do câncer pode muitas vezes não ser reconhecida por várias razões. Primeiro, a maioria das partículas de alguns vírus é infectiva, mas não causa câncer. Segundo, o câncer pode se desenvolver somente muito tempo após a infecção viral. Terceiro, o câncer não parece ser contagioso, como ocorre em muitas doenças virais.

Transformação de células normais em células tumorais

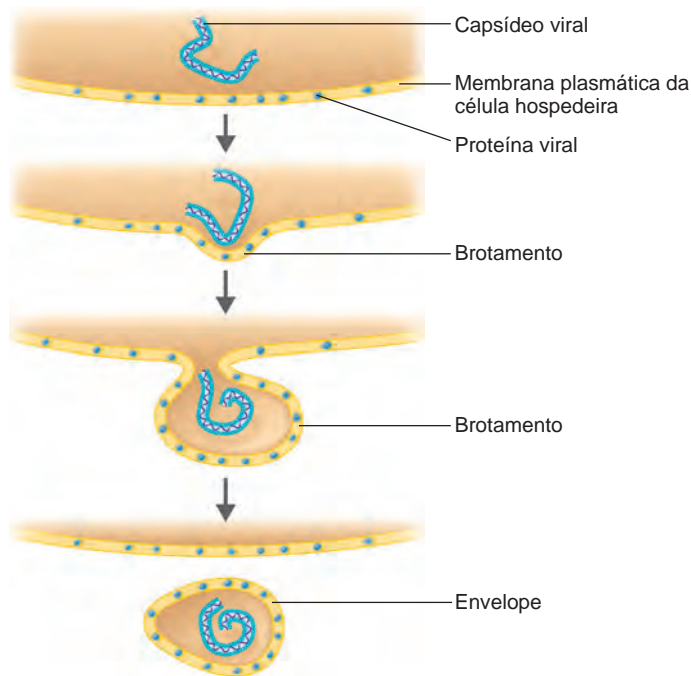
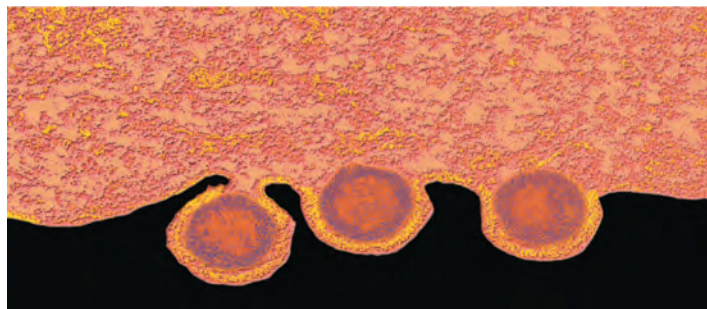
Quase tudo o que pode alterar o material genético de uma célula eucariótica tem o potencial de transformar uma célula normal em uma célula cancerosa. Essas alterações que causam câncer afetam partes do genoma chamadas de **oncogenes**. Os oncogenes foram identificados pela primeira vez em vírus causadores de câncer e

(a) Liberação por brotamento

(b) *Alphavirus*

Figura 13.20 Brotamento de um vírus envelopado. (a) Ilustração esquemática do processo de brotamento. **(b)** Um vírus de anfíbios brotando das células hospedeiras. O CDC relatou que esse vírus tem sido responsável pela mortalidade mundial em massa de anfíbios.

P Qual a composição de um envelope viral?

foram considerados parte do genoma viral normal. No entanto, os microbiologistas norte-americanos J. Michael Bishop e Harold E. Varmus receberam o Prêmio Nobel de Medicina, em 1989, por terem provado que os genes indutores de câncer transmitidos pelos vírus são, na verdade, derivados de células animais. Bishop e Varmus mostraram que o gene *src* causador de câncer, encontrado no vírus do sarcoma aviário, é derivado de uma parte normal do genoma das galinhas.

Os oncogenes podem ser ativados para um funcionamento anormal por uma variedade de agentes, incluindo químicos mutagênicos, radiação de alta energia e vírus. Os vírus capazes de induzir tumores em animais são chamados de **vírus oncogênicos**, ou *oncovírus*. Sabe-se que aproximadamente 10% dos casos de câncer são causados por vírus. Uma característica marcante de todos os vírus oncogênicos é que seu material genético se integra ao DNA da célula hospedeira, replicando juntamente com os cromossomos celulares. Esse mecanismo é semelhante ao fenômeno da lisogenia nas bactérias, podendo alterar da mesma maneira as características da célula hospedeira.

As células tumorais sofrem **transformação**, isto é, adquirem propriedades que são distintas daquelas das células não infectadas ou daquelas infectadas, mas que não formam tumores. Após serem transformadas pelos vírus, algumas células tumorais passam a expressar um antígeno vírus-específico chamado de **antígeno de transplante tumor-específico** (**TSTA**, de *tumor-specific transplantation antigen*) em sua superfície e também no núcleo, chamado de **antígeno T**. As células transformadas tendem a ser menos arredondadas do que as células normais e tendem a exibir determinadas anormalidades cromossômicas, como um número anormal de cromossomos e cromossomos fragmentados.

Vírus de DNA oncogênicos

Os vírus oncogênicos fazem parte de inúmeras famílias de vírus com genoma DNA. Essas famílias incluem *Adenoviridae, Herpesviridae*, *Poxviridae*, *Papovaviridae* e *Hepadnaviridae*. Entre os papovavírus, o papilomavírus causa câncer uterino (cervical).

Quase todos os casos de câncer cervical são causados pelo papilomavírus humano (HPV, de *human papillomavirus*); o HPV16 é responsável por cerca da metade de todos os casos de câncer cervical. Uma vacina contra quatro HPVs, incluindo o HPV16, é recomendada para crianças de 11 e 12 anos de idade.

O vírus Epstein-Barr (EB) foi isolado, em 1964, por Michael Epstein e Yvonne Barr a partir de células de linfoma de Burkitt. O potencial cancerígeno desse vírus foi observado acidentalmente em 1985, quando um garoto chamado David recebeu um transplante de medula óssea. Alguns meses depois do transplante, David morreu de câncer. Uma autópsia revelou que o vírus havia sido inadvertidamente introduzido no garoto junto com o material do transplante da medula.

Um outro vírus de genoma DNA que causa câncer é o vírus da hepatite B (HBV, de *Hepatitis B virus*). Muitos estudos realizados em animais claramente indicam a participação desse vírus no câncer de fígado. Um estudo com seres humanos demonstrou que quase todas as pessoas que desenvolveram câncer de fígado tiveram infecções prévias por HBV.

Vírus de RNA oncogênicos

Entre os vírus de RNA, somente os oncovírus da família *Retroviridae* causam câncer. Os vírus da leucemia de células T humanas (HTLV-1 e HTLV-2, de *human T-cell leukemia*) são retrovírus que causam linfoma e leucemia de células T em seres humanos adultos. (As células T são um tipo de células brancas do sangue envolvidas na resposta imunológica.)

Os vírus do sarcoma felino, aviário e murino, bem como os vírus de tumor de mama em camundongos, também são retrovírus. Um outro retrovírus, o vírus da leucemia felina (FeLV, de *feline leukemia virus*), causa leucemia em gatos e é transmissível entre eles. Não existe nenhum teste para a detecção do vírus no soro dos gatos.

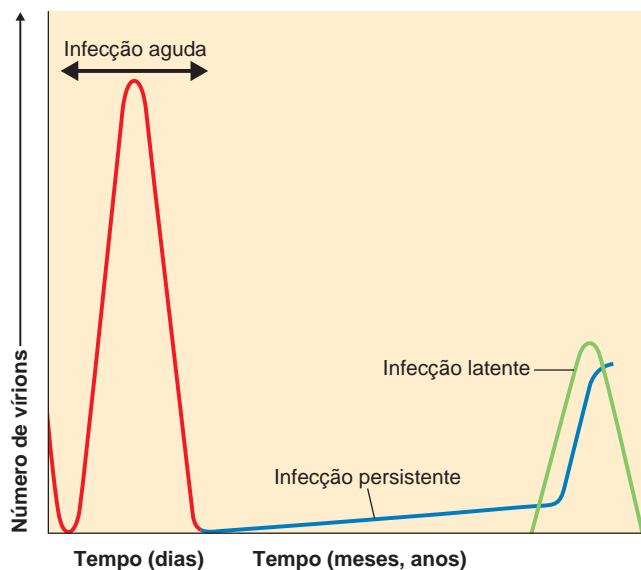



Figura 13.21 **Infecções virais latentes e persistentes.**

P Como as infecções latentes e persistentes se diferem?

P&R A capacidade dos retrovírus em induzir tumores está relacionada com a produção da transcriptase reversa pelo mecanismo descrito anteriormente (veja a Figura 13.19). O provírus, que é uma molécula de DNA de fita dupla sintetizada a partir do RNA viral, se torna integrado ao DNA da célula hospedeira.Com isso, o novo material genético é introduzido no genoma do hospedeiro, e esta é a razão principal pela qual os retrovírus contribuem para o câncer. Alguns retrovírus possuem oncogenes; outros possuem promotores que ativam os oncogenes ou outros fatores causadores do câncer.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é um provírus? **13-11**
- ✓ Como um vírus de RNA pode causar câncer se não possui um DNA para ser inserido no genoma da célula hospedeira? **13-12**

Infecções virais latentes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-13 Apresentar um exemplo de uma infecção viral latente.

Um vírus pode permanecer em equilíbrio com o hospedeiro por um longo período, geralmente anos, sem causar doença. Os vírus oncogênicos são exemplos de tais infecções latentes. Todos os herpesvírus humanos podem permanecer nas células hospedeiras por toda a vida do indivíduo. Quando os herpesvírus são reativados por imunossupressão (p. ex., a Aids), a infecção resultante pode ser fatal. Um exemplo clássico de **infecção latente** é a infecção de pele causada pelo herpes labial. Esse vírus habita as células nervosas do hospedeiro, mas só causa danos quando for ativado por um estímulo como febre ou queimaduras de sol – daí o termo em inglês *fever blister* (úlcera febril).

Em alguns indivíduos, os vírus são produzidos, mas os sintomas nunca aparecem. Embora uma grande proporção da população humana possua o vírus que causa o herpes labial, somente 10 a 15% dessa população apresentam a doença. Os vírus causadores de algumas infecções latentes existem em estado lisogênico dentro das células hospedeiras.

O vírus da catapora (do gênero *Varicellovirus*) também pode existir em estado latente. A catapora (varicela) é uma doença de pele, geralmente contraída na infância. Os vírus chegam à pele através do sangue. A partir do sangue, podem atingir os nervos onde permanecem latentes. Mudanças na resposta imune (células T) podem, mais tarde, ativar os vírus latentes, levando ao desenvolvimento do herpes zoster. Os exantemas causados pelo herpes zoster aparecem na pele ao longo do nervo em que o vírus estava latente. O herpes zoster ocorre em 10 a 20% das pessoas que tiveram varicela.

Infecções virais persistentes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-14 Diferenciar infecção viral persistente de infecção viral latente.

Uma **infecção viral persistente** ou **crônica** ocorre gradualmente em um longo período. Tipicamente, as infecções virais persistentes são fatais. Demonstrou-se, na verdade, que algumas infecções virais persistentes são causadas por vírus convencionais. Por exemplo, o vírus do sarampo é responsável por uma forma rara de panencefalite subaguda esclerosante (SSPE, de *subalute sclerosing panencephalitis*), vários anos após causar o sarampo. Uma infecção viral persistente é aparentemente distinta de uma infecção viral latente, porque, na maior parte dos casos, os vírus infecciosos são detectados gradualmente por um longo período, em vez de aparecerem repentinamente (**Figura 13.21**).

Vários exemplos de infecções virais persistentes e latentes são listados na **Tabela 13.5.**

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O herpes zoster é uma infecção latente ou persistente? **13-13, 13-14**

Prions

OBJETIVO DO APRENDIZADO

13-15 Discutir como uma proteína pode ser infecciosa.

Um número pequeno de doenças infecciosas é causado por prions. Em 1982, o neurobiologista norte-americano Stanley Prusiner sugeriu que proteínas infecciosas teriam sido a causa de uma doença neurológica em ovelhas, denominada *scrapie*. A infectividade do tecido cerebral contaminado por *scrapie* é reduzida após o tratamento com proteases, mas não por tratamento com radiação, sugerindo que o agente infeccioso seja puramente uma proteína. Pru-

siner cunhou o nome **prion** da expressão *pro*teinaceous *in*fectious particle (proteína proteica infecciosa).

Atualmente existem nove doenças animais incluídas nessa categoria, entre elas a doença da "vaca louca", que surgiu nos rebanhos da Grã-Bretanha em 1987. Todas são doenças neurológicas denominadas encefalopatias espongiformes devido ao desenvolvimento de grandes vacúolos no cérebro (Figura 22.18a, página 630). As doenças humanas são kuru, doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD), síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker e insônia familiar fatal. (As doenças neurológicas são discutidas no Capítulo 22.) Essas doenças se manifestam em membros da mesma família, o que indica uma possível causa genética. Entretanto, não podem ser puramente herdadas, já que a doença da vaca louca surgiu em gado alimentado com ração feita com carne de ovelhas contaminadas com *scrapie*, e a nova variante (bovina) foi transmitida aos seres humanos pela ingestão de carne bovina mal cozida (veja o Capítulo 1, página 20). Além disso, a CJD foi transmitida por tecido nervoso transplantado e por instrumentos cirúrgicos contaminados.

Essas doenças são causadas por uma glicoproteína normal do hospedeiro denominada PrP^{c}, de proteína prion celular, que é convertida em uma forma infecciosa denominada PrP^{Sc}, de proteína *scrapie*. O gene que codifica para a proteína PrP^{c} se localiza no cromossomo 20 em seres humanos. Evidências recentes sugerem que a proteína PrP^{c} esteja envolvida na regulação da morte celular. (Veja a discussão sobre apoptose na página 489.) Uma hipótese para explicar como um agente infeccioso que não possui ácido nucleico pode se replicar é apresentada na **Figura 13.22**.

A causa real do dano celular não é conhecida. Os fragmentos das moléculas de PrP^{Sc} se acumulam no cérebro, formando placas; essas placas são usadas para diagnóstico *postmortem*, mas não parecem ser a causa do dano celular.

Figura 13.22 Como uma proteína pode ser infecciosa. Se uma proteína prion anormal (PrP^{Sc}) penetra na célula, altera a proteína prion normal para uma proteína PrP^{Sc}, que agora pode modificar outra PrP^{c} normal, resultando em um acúmulo de proteína anormal PrP^{Sc}.

P Como os prions diferem dos vírus?

Vírus de plantas e viroides

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

13-16 Diferenciar vírus, viroide, prion.

13-17 Descrever o ciclo lítico de um vírus de planta.

Os vírus de plantas se parecem, em muitos aspectos, com os vírus animais: os vírus de plantas são morfologicamente similares aos vírus animais e possuem ácidos nucleicos semelhantes (**Tabela 13.6**). De fato, alguns vírus de plantas podem se multiplicar dentro de células de insetos. Esses vírus causam muitas doenças em culturas de grãos economicamente importantes como feijão (vírus do mosaico do feijão), milho e cana-de-açúcar (*Wound tumor virus*) e na batata (vírus do nanismo amarelo da batata). Os vírus podem causar mudança de coloração, crescimento deformado, definhamento e interrupção do crescimento das plantas hospedeiras. Alguns hospedeiros, no entanto, permanecem sem sintomas e atuam somente como reservatórios da infecção.

As células vegetais normalmente são protegidas das doenças pela parede celular impermeável. Os vírus devem entrar através de abrasões ou ser introduzidos juntamente com parasitas de

Tabela 13.5 Exemplos de infecções virais latentes e persistentes em seres humanos

Doença	Efeito primário	Vírus causador
Latente	**Ausência de sintomas durante a latência; os vírus em geral não são liberados.**	
Herpes labial	Lesões na membrana mucosa e na pele; lesões genitais	HHV-1 e HHV-2
Leucemia	Aumento do número das células brancas do sangue	HTLV-1 e HTLV-2
Herpes zoster	Lesões na pele	*Varicellovirus* (herpesvírus)
Persistente	**Os vírus são liberados continuamente.**	
Câncer cervical	Crescimento celular aumentado	Papilomavírus humano
HIV/Aids	Diminuição de linfócitos T CD_4^+	HIV-1 e HIV-2 (*Lentivirus*)
Câncer de fígado	Crescimento celular aumentado	Vírus da hepatite B
Infecção persistente por enterovírus	Deterioração mental associada com Aids	Ecovírus
Encefalite progressiva	Rápida deterioração mental	Vírus da rubéola
Panencefalite esclerosante subaguda	Deterioração mental	Vírus do sarampo

Tabela 13.6 Classificação de alguns dos principais vírus vegetais

Característica	Família viral	Gênero viral ou membros não classificados	Morfologia	Método de transmissão
DNA de fita dupla, não envelopado	*Papovaviridae*	Vírus do mosaico da couve-flor		Pulgões
RNA de fita simples, polaridade positiva, não envelopado	*Potyviridae*	Vírus do mosaico da melancia		Moscas brancas
	Tetraviridae	*Tobamovirus*		Lesões
RNA de fita simples, polaridade negativa, envelopado	*Rhabdoviridae*	Vírus do nanismo amarelo da batata		Cigarras e afídios
RNA de fita dupla, não envelopado	*Reovirus*	*Wound tumor virus*		Cigarras

plantas, como os nematódeos, os fungos e, mais frequentemente, os insetos que sugam a seiva da planta. O pólen ou as sementes de uma planta infectada podem disseminar a infecção para outras plantas.

Em laboratórios, os vírus de plantas são cultivados em protoplastos (células vegetais cuja parede celular foi removida) e em culturas de células de insetos.

Algumas doenças de plantas são causadas por **viroides**, pedaços pequenos de RNA, com cerca de 300 a 400 nucleotídeos somente e sem qualquer envoltório proteico. Os nucleotídeos em geral são pareados internamente, de forma que a molécula possui uma estrutura tridimensional fechada e dobrada, o que provavelmente protege do ataque de enzimas celulares. Esse RNA não codifica para nenhuma proteína. Até agora, os viroides têm sido identificados como patógenos exclusivos de plantas. Infecções por viroides, como o viroide do tubérculo afilado da batata, resultam em perdas anuais de milhões de dólares em danos causados às lavouras (**Figura 13.23**).

Figura 13.23 **Viroide linear e circular do tubérculo da batata (PSTV).**

P **Quais as diferenças entre viroides e prions?**

Pesquisas atuais revelaram similaridades entre as sequências de bases dos viroides e dos íntrons. Recorde do Capítulo 8 (página 220) que íntrons são sequências de material genético que não codificam polipeptídeos. Essas observações têm conduzido à hipótese de que os viroides teriam evoluído dos íntrons, levando à especulação de que no futuro pesquisadores poderiam vir a descobrir viroides animais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Compare viroides e prions e indique uma doença causada por cada um. **13-15, 13-16**

✓ Como os vírus vegetais penetram na célula hospedeira? **13-17**

RESUMO PARA ESTUDO

Características gerais dos vírus (p. 368, 369)

1. Dependendo do ponto de vista, os vírus podem ser considerados como agregados muito complexos de substâncias químicas ou como micróbios extremamente simples.
2. Os vírus possuem um único tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA) e um envoltório proteico, algumas vezes coberto por um envelope composto de lipídeos, proteínas e carboidratos.
3. Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios. Sua multiplicação depende da maquinaria de síntese proteica da célula hospedeira que é utilizada para produzir elementos especializados na transferência do ácido nucleico viral a outras células.

Espectro de hospedeiros (p. 368, 369)

4. O espectro de hospedeiros se refere ao espectro de células hospedeiras em que um vírus pode se multiplicar.
5. A maioria dos vírus infecta somente tipos específicos de células em uma espécie de hospedeiros.
6. O espectro de hospedeiros é determinado pelo sítio específico de adsorção na superfície da célula hospedeira e da disponibilidade de fatores celulares.

Tamanho dos vírus (p. 369)

7. O tamanho da partícula viral é determinado por microscopia eletrônica.
8. O tamanho dos vírus varia de 20 a 1.000 nm.

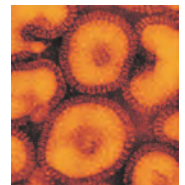
Estrutura viral (p. 370-373)

1. Um vírus consiste em uma partícula viral totalmente desenvolvida composta por ácido nucleico envolto por uma cobertura proteica.

Ácido nucleico (p. 371, 372)

2. Os vírus possuem DNA ou RNA, nunca ambos, e o ácido nucleico pode ser de fita simples ou fita dupla, em forma linear, circular ou segmentada.
3. A proporção de ácido nucleico para proteína viral varia de 1 a 50%.

Capsídeo e envelope (p. 372, 373)

4. O envoltório proteico que envolve o ácido nucleico do vírus é chamado de capsídeo.
5. O capsídeo é composto por subunidades, os capsômeros, que podem ser formados por proteínas de um único tipo ou de diversos tipos.
6. O capsídeo de alguns vírus é envolto por um envelope consistindo de lipídeos, proteínas e carboidratos.
7. Alguns envelopes são cobertos com complexos de carboidratos e proteínas chamados de espículas.

Morfologia geral (p. 373)

8. Os vírus helicoidais (p. ex., Ebola) lembram longos bastões, e seus capsídeos são cilindros ocos que circundam o ácido nucleico.
9. Os vírus icosaédricos (p. ex., adenovírus) são multifacetados. O capsídeo em geral é um icosaedro.
10. Os vírus envelopados são cobertos por um envelope e são quase esféricos, mas altamente pleomórficos. Existem vírus envelopados helicoidais (p. ex., *Influenzavirus*) e icosaédricos (p. ex., *Simplexvirus*).
11. Os vírus complexos possuem estruturas complexas. Por exemplo, muitos bacteriófagos possuem um capsídeo poliédrico com uma cauda helicoidal.

Taxonomia dos vírus (p. 373, 374)

1. A classificação dos vírus é baseada no tipo de ácido nucleico, na estratégia de replicação e na morfologia.
2. Os nomes das famílias virais terminam em *-viridae*; os nomes dos gêneros terminam em *-virus*.
3. Uma espécie viral consiste em um grupo de vírus que compartilham a mesma informação genética e o mesmo nicho ecológico.

Isolamento, cultivo e identificação de vírus (p. 374-379)

1. Os vírus só se multiplicam em células vivas.
2. Os vírus que se multiplicam mais facilmente são os bacteriófagos.

O cultivo de bacteriófagos em laboratório (p. 374-377)

3. O método de placa de lise mistura os bacteriófagos com as bactérias hospedeiras e ágar nutriente.
4. Após vários ciclos de multiplicação viral, as bactérias na área circundante à bactéria originalmente infectada pelo vírus são destruídas; a área de lise é denominada placa de lise.
5. Cada placa de lise é originada de uma única partícula viral; a concentração de vírus é dada em unidades formadoras de placas.

O cultivo de vírus animais em laboratório (p. 377-379)

6. O cultivo de alguns vírus animais requer o uso de animais inteiros.
7. A Aids símia e a Aids felina são modelos para o estudo da Aids humana.
8. Alguns vírus animais podem ser cultivados em ovos embrionados.
9. Culturas de células consistem em células que proliferam em meios de cultura no laboratório.
10. Linhagens celulares primárias e linhagens de células diploides embrionárias se desenvolvem *in vitro* por um curto período.
11. Linhagens celulares contínuas podem ser mantidas *in vitro* indefinidamente.
12. A multiplicação viral causa efeitos citopáticos em culturas celulares.

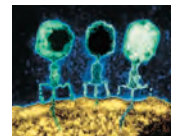
Identificação viral (p. 379)

1. Os testes sorológicos são os mais frequentemente utilizados na identificação dos vírus.
2. Os vírus podem ser identificados por RFLPs e por PCR.

Multiplicação viral (p. 379-389)

1. Os vírus não possuem enzimas para produção de energia ou síntese de proteínas.
2. Para um vírus se multiplicar, ele deve invadir uma célula hospedeira e direcionar a maquinaria metabólica do hospedeiro para produzir enzimas e outros componentes virais.

Multiplicação de bacteriófagos (p. 379-382)

3. Durante o ciclo lítico, um fago causa a lise e a morte da célula hospedeira.
4. Alguns vírus podem tanto causar lise como incorporar seu DNA, como um profago, no DNA da célula hospedeira. A última situação é chamada de lisogenia.
5. Durante a fase de adsorção do ciclo lítico, os sítios na superfície das fibras da cauda do fago ancoram-se em sítios receptores complementares na célula hospedeira.
6. Durante a penetração, a lisozima do fago faz uma abertura na parede da célula bacteriana, a cobertura da cauda se contrai e impulsiona a região central da cauda através da parede, e o DNA do fago penetra na célula. O capsídeo permanece do lado de fora.

7. Na biossíntese, o DNA do fago produz mRNA, que codifica as proteínas necessárias para sua multiplicação. O DNA do fago é replicado, e as proteínas do capsídeo são produzidas. Durante o período de eclipse podem ser encontrados, separadamente, DNA e proteínas.
8. Durante a maturação, o DNA do fago e os capsídeos são montados em vírus completos.
9. Durante a liberação, a lisozima do fago rompe a parede bacteriana, e os novos fagos produzidos são liberados.
10. Durante o ciclo lisogênico, os genes do profago são regulados por um repressor codificado pelo profago. Cada vez que uma célula se divide, o profago é replicado.
11. A exposição a determinados agentes mutagênicos pode levar à excisão do profago e ao início do ciclo lítico.
12. Devido à lisogenia, as células lisogênicas tornam-se imunes à reinfecção pelo mesmo fago e podem sofrer conversão fágica.
13. Um fago lisogênico pode transferir genes bacterianos de uma célula para outra através da transdução. Na transdução generalizada qualquer gene pode ser transferido e na transdução especializada são transferidos genes específicos.

Multiplicação de vírus animais (p. 382-389)

14. Os vírus animais ancoram-se na membrana plasmática da célula hospedeira.
15. A penetração ocorre por endocitose ou fusão.
16. Os vírus animais são desnudados por enzimas virais ou da célula hospedeira.

17. O DNA da maioria dos vírus de DNA é liberado no núcleo da célula hospedeira. A transcrição do DNA e a tradução produzem respectivamente DNA viral e as proteínas do capsídeo. Essas proteínas são sintetizadas no citoplasma da célula hospedeira.
18. Os vírus de DNA incluem membros das famílias *Adenoviridae*, *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Papovaviridae* e *Hepadnaviridae*.
19. A multiplicação dos vírus de RNA ocorre no citoplasma da célula hospedeira. A RNA-polimerase dependente de RNA sintetiza a fita dupla de RNA.
20. A fita positiva de RNA dos *Picornaviridae* atua como mRNA e direciona a síntese da RNA-polimerase dependente de RNA.
21. A fita positiva de RNA dos *Togaviridae* atua como molde para a RNA--polimerase, e o mRNA é transcrito a partir de uma nova fita negativa de RNA.
22. A fita negativa de RNA dos *Rhabdoviridae* é o molde para a RNA--polimerase dependente de RNA, que transcreve o mRNA.
23. Os *Reoviridae* são digeridos no citoplasma da célula hospedeira, liberando o mRNA para a biossíntese viral.
24. A transcriptase reversa dos retrovírus (DNA-polimerase dependente de RNA) transcreve DNA a partir de RNA.

25. Após a maturação, os vírus são liberados. O brotamento é um dos métodos de liberação (e de formação do envelope). Os vírus não envelopados são liberados pela ruptura da membrana da célula hospedeira.

Vírus e câncer (p. 389-392)

1. A relação mais antiga entre câncer e vírus foi demonstrada no início do século XX, quando a leucemia e o sarcoma aviários foram transferidos para animais sadios por meio de filtrados livres de células.

Transformação de células normais em células tumorais (p. 390, 391)

2. Os oncogenes, quando ativados, transformam células normais em células cancerosas.
3. Os vírus capazes de produzir tumores são denominados vírus oncogênicos.
4. Muitos vírus de DNA e retrovírus são oncogênicos.
5. O material genético dos vírus oncogênicos integra-se no genoma da célula hospedeira.
6. As células transformadas perdem a inibição por contato, possuem antígenos virais específicos (TSTA e antígeno T), exibem anormalidades cromossômicas e podem, ainda, produzir tumores quando injetadas em animais suscetíveis.

Vírus de DNA oncogênicos (p. 391)

7. Os vírus oncogênicos são encontrados entre as famílias *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae* e *Papovaviridae*.
8. O vírus EB, um herpesvírus, causa linfoma de Burkitt e carcinoma nasofaríngeo. O *Hepadnavirus* causa câncer hepático.

Vírus de RNA oncogênicos (p. 391, 392)

9. Entre os vírus de RNA, somente os retrovírus parecem ser oncogênicos.
10. HTLV-1 e HTLV-2 têm sido associados com leucemia e linfoma em seres humanos.
11. A capacidade de um vírus em produzir tumores está relacionada com a presença da transcriptase reversa. O DNA sintetizado a partir do RNA viral incorpora-se ao DNA da célula hospedeira como um provírus.
12. Um provírus pode permanecer latente, produzir novos vírus ou transformar a célula hospedeira.

Infecções virais latentes (p. 392)

1. Uma infecção viral latente é aquela em que o vírus permanece dentro da célula hospedeira por longos períodos, sem produzir uma infecção.
2. Os exemplos são o herpes labial e o herpes zoster.

Infecções virais persistentes (p. 392)

1. As infecções virais persistentes são processos patológicos que se estendem por um longo período, sendo geralmente fatais.
2. As infecções virais persistentes são causadas por vírus convencionais; os vírus se acumulam por um longo período.

Prions (p. 392, 393)

1. Os prions são proteínas infecciosas descobertas na década de 1980.
2. Todas as doenças causadas por prions, como a CJD e a doença da vaca louca, envolvem a degeneração do tecido cerebral.
3. As doenças causadas por prions são resultantes de uma proteína alterada; a causa da alteração pode ser uma mutação no gene da PrP^{C} ou o contato da proteína normal com a proteína alterada (PrP^{Sc}).

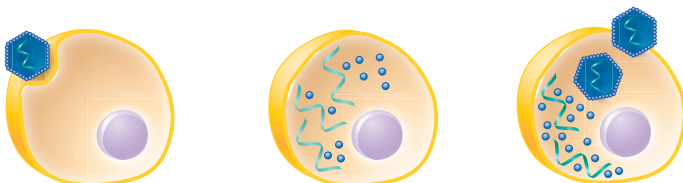
Vírus de plantas e viroides (p. 393-395)

1. Os vírus de plantas entram nas plantas hospedeiras através de lesões ou com parasitas invasivos como os insetos.
2. Alguns vírus de plantas podem se multiplicar em células de insetos (vetores).
3. Os viroides são fragmentos de RNA infecciosos causadores de algumas doenças em plantas, como o viroide do tubérculo afilado da batata (*potato spindle tuber viroid disease*).

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Por que os vírus são classificados como parasitas intracelulares obrigatórios?
2. Enumere as quatro propriedades que definem um vírus. O que é um vírion?
3. Descreva e esquematize as quatro classes morfológicas dos vírus, citando um exemplo de cada.
4. **DESENHE** Indique os principais eventos de adsorção, biossíntese, penetração e morfogênese de um vírus de RNA de fita positiva. Desenhe a fase de desnudamento.

5. Compare o processo de biossíntese de um vírus de RNA de fita positiva como de um vírus de RNA de fita negativa.
6. Alguns antibióticos ativam os genes dos fagos. A Reucocidina Panton--Valentine com liberação de MRSA causa uma doença mortal. Por que isso acontece após um tratamento com antibióticos?
7. Recorde do Capítulo 1 que os postulados de Kock são usados para determinar a etiologia de uma doença. Por que é difícil determinar a etiologia
   a) de uma infecção viral como a gripe?
   b) do câncer?
8. Infecções virais persistentes como **(a)** ____________________ podem ser causadas por **(b)** _____________ que são **(c)** ______________.
9. Os vírus de plantas não podem penetrar em células vegetais intactas por causa da **(a)** ___________________; por isso, eles penetram nas células através de **(b)** _______________. Os vírus de plantas podem ser cultivados em **(c)** ____________.

Múltipla escolha

1. Assinale a alternativa que melhor representa a sequência de eventos na biossíntese de um bacteriófago: (1) lisozima do fago; (2) mRNA; (3) DNA; (4) proteínas virais; (5) DNA-polimerase.
   a. 5, 4, 3, 2, 1
   b. 1, 2, 3, 4, 5
   c. 5, 3, 4, 2, 1
   d. 3, 5, 2, 4, 1
   e. 2, 5, 3, 4, 1
2. A molécula que serve de mRNA é incorporada nos capsídeos recém-sintetizados de todos os seguintes vírus, *exceto*:
   a. Picornavírus com RNA de fita positiva.
   b. Togavírus com RNA de fita positiva.
   c. Rabdovírus com RNA de fita negativa.
   d. Reovírus com RNA de fita dupla.
   e. Herpesvírus com DNA de fita dupla.
3. Um vírus com uma RNA-polimerase dependente de RNA:
   a. Sintetiza DNA a partir de um molde de RNA.
   b. Sintetiza RNA de fita dupla a partir de um molde de RNA.
   c. Sintetiza RNA de fita dupla a partir de um molde de DNA.
   d. Transcreve mRNA a partir de um molde de DNA.
   e. Nenhuma das alternativas.
4. Qual das afirmativas seguintes pode constituir a primeira etapa no processo de biossíntese de um vírus com transcriptase reversa?
   a. Uma fita complementar de RNA deve ser sintetizada.
   b. RNA de fita dupla deve ser sintetizado.
   c. Uma fita complementar de DNA deve ser sintetizada a partir de um molde de RNA.
   d. Uma fita complementar de DNA deve ser sintetizada a partir de um molde de DNA.
   e. Nenhuma das alternativas.
5. Constitui um exemplo de lisogenia em animais:
   a. Infecções virais lentas.
   b. Infecções virais latentes.
   c. Bacteriófagos T-pares.
   d. Infecções que resultem na morte celular.
   e. Nenhuma das alternativas.
6. A capacidade de um vírus em infectar um organismo é regulada:
   a. Pela espécie hospedeira.
   b. Pelo tipo de célula.
   c. Pela disponibilidade de sítios para a adsorção.
   d. Pelos fatores celulares necessários para a replicação viral.
   e. Todas as alternativas.
7. Qual das seguintes afirmativas *não* é verdadeira?
   a. Os vírus podem conter DNA ou RNA.
   b. O ácido nucleico de um vírus é coberto por um envoltório proteico.
   c. Os vírus se multiplicam dentro das células vivas utilizando mRNA viral, tRNA e ribossomos.
   d. Os vírus provocam a síntese de elementos infecciosos especializados.
   e. Os vírus se multiplicam dentro de células vivas.
8. Assinale a alternativa que melhor represente a ordem em que são encontrados dentro da célula hospedeira: (1) proteínas do capsídeo; (2) partículas infectivas dos fagos; (3) ácido nucleico dos fagos.
   a. 1, 2, 3
   b. 3, 2, 1
   c. 2, 1, 3
   d. 3, 1, 2
   e. 1, 3, 2
9. Qual das seguintes alternativas *não* inicia a síntese de DNA?
   a. Um vírus de DNA de fita dupla (*Poxviridae*).
   b. Um vírus de DNA com transcriptase reversa (*Hepadnaviridae*).
   c. Um vírus de RNA com transcriptase reversa (*Retroviridae*).
   d. Um vírus de RNA de fita simples (*Togaviridae*).
   e. Nenhuma das alternativas.
10. Uma espécie viral não é definida com base nos sintomas da doença que causa. O melhor exemplo é:
   a. Poliomielite.
   b. Raiva.
   c. Hepatite.
   d. Catapora ou herpes zoster.
   e. Sarampo.

Pensamento crítico

1. Discuta os argumentos favoráveis e contrários à classificação dos vírus como seres vivos.
2. Em alguns vírus, os capsômeros possuem função tanto enzimática quanto estrutural. Qual a vantagem disso para os vírus?
3. Por que a descoberta dos vírus causadores da Aids símia e felina foi importante?
4. Os profagos e provírus têm sido descritos como sendo similares aos plasmídeos bacterianos. Que propriedades similares eles exibem? Como eles diferem?

Aplicações clínicas

1. Um homem de 40 anos, soropositivo para HIV, apresentou dor abdominal, fadiga e febre baixa (38ºC) por duas semanas. Um raio X de tórax revelou a presença de infiltrado inflamatório no pulmão. As colorações de Gram e álcool-ácido foram negativas. Uma cultura viral revelou a causa dos sintomas: vírus grandes, envelopados, com capsídeo icosaédrico e genoma DNA de fita dupla. Que doença é essa? Que vírus a causa? Por que foi feita cultura viral após obtenção dos testes de coloração de Gram e álcool-ácido?
2. Uma menina recém-nascida apresentou extensivas lesões vesiculares e ulcerativas na face e no tórax. Qual é a causa mais provável dos sintomas? Como você determinaria a causa viral da doença sem fazer um cultivo viral?
3. Em uma mesma cidade, 32 pessoas procuraram seus médicos com os sintomas de febre (40ºC), icterícia e abdome sensível. Todos haviam ingerido uma bebida com gelo comprada em uma loja de conveniência local. Nos meses subsequentes, os sintomas desapareceram e a função hepática voltou ao normal. Que doença é essa? Poderia ter sido causada por um membro das famílias *Picornaviridae*, *Hepadnaviridae* ou *Flaviviridae*? Estabeleça as diferenças entre essas famílias com base no método de transmissão, morfologia, tipo de ácido nucleico e tipo de replicação.

14 Princípios de Doença e Epidemiologia

Agora que você já tem um conhecimento básico sobre as estruturas e as funções dos micro--organismos e alguma ideia da variedade existente, poderemos considerar como o corpo humano e vários micro-organismos interagem em termos de saúde e doença.

Todos nós possuímos mecanismos de defesa para permanecermos saudáveis. No entanto, ainda assim somos suscetíveis a **patógenos** (micro-organismos que causam doenças). Existe um equilíbrio delicado entre nossos sistemas de defesa e os mecanismos patogênicos dos micro-organismos. Quando nossos sistemas de defesa resistem a esta capacidade patogênica, nos mantemos saudáveis. Contudo, quando as capacidades patogênicas dominam nossas defesas, o resultado é o surgimento de doença. Uma vez estabelecida a doença, uma pessoa infectada pode se recuperar completamente, sofrer danos temporários ou permanentes, ou morrer.

Na Parte Três, examinaremos alguns dos princípios de infecção e doença, os mecanismos pelos quais patógenos são capazes de gerar doença, as defesas do corpo contra as doenças, e os modos como as doenças microbianas podem ser evitadas pela imunização ou controladas com drogas. Este primeiro capítulo discute os princípios gerais de doença, iniciando com uma discussão sobre o significado e a abrangência da patologia. Na última seção deste capítulo, “Epidemiologia”, você aprenderá como estes princípios são importantes para o estudo e o controle das doenças.

SOB O MICROSCÓPIO

Staphylococcus aureus. Estas bactérias patogênicas são comumente encontradas na pele de pessoas saudáveis.

P&R

Uma paciente dá entrada em um hospital para remover um pedaço de cartilagem lesionada do joelho direito. A cirurgia foi preparada para ser um procedimento simples, com a liberação da paciente devendo ocorrer no mesmo dia. Infelizmente, ela desenvolveu uma pneumonia e só pode ser liberada 10 dias depois. Como você explicaria estes eventos?

Procure pela resposta neste capítulo.

Patologia, infecção e doença

OBJETIVO DO APRENDIZADO

14-1 Identificar as contribuições de Paul Ehrlich e Alexander Fleming à quimioterapia.

Patologia é o estudo científico das doenças (do grego *pathos* = sofrimento; *logos* = ciência). O primeiro objeto de estudo da patologia é a causa, ou **etiologia**, de uma doença. Em segundo lugar, ela lida com a **patogênese**, que é a maneira como uma doença se desenvolve. Por fim, a patologia analisa as *mudanças estruturais* e *funcionais* decorrentes da doença e seus efeitos finais no organismo.

Embora os termos *doença* e *infecção* sejam eventualmente usados como sinônimos, eles apresentam diferenças em seus significados. **Infecção** é a invasão ou colonização do corpo por micro-organismos patogênicos; a **doença** ocorre quando uma infecção resulta em qualquer mudança no estado de saúde do hospedeiro. A doença é um estado anormal no qual parte ou todo o organismo não se apresenta propriamente ajustado ou é incapaz de desenvolver suas funções normais. Uma infecção pode existir na ausência de doença detectável. Por exemplo, o organismo pode ser infectado pelo vírus que causa a Aids, porém sem que haja qualquer sintoma de doença.

A presença de um tipo particular de micro-organismo em uma parte do corpo onde ele normalmente não é encontrado também é chamada de infecção, podendo acarretar no surgimento de doença. Por exemplo, embora enormes quantidades de *E. coli* normalmente estejam presentes no intestino saudável, sua infecção no trato urinário em geral leva à doença.

Poucos micro-organismos são patogênicos. De fato, a presença de alguns micro-organismos é até mesmo benéfica para o hospedeiro. Portanto, antes de discutirmos o papel dos micróbios no desenvolvimento de doenças, examinemos as relações entre os micro-organismos e o organismo humano saudável.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são os objetivos da patologia? **14-1**

Microbiota normal

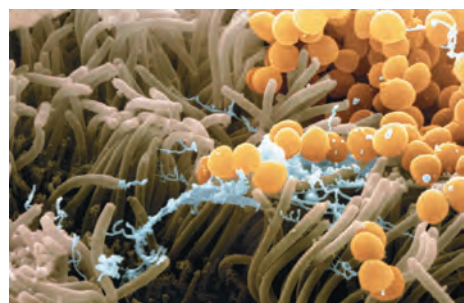
OBJETIVOS DO APRENDIZADO

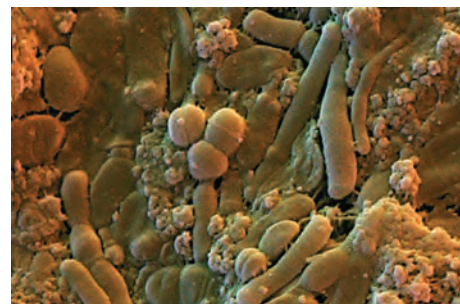
14-2 Definir microbiota normal e transiente.

14-3 Comparar comensalismo, mutualismo e parasitismo e dar exemplos de cada relação.

14-4 Contrastar as microbiotas normal e transiente com os micro-organismos oportunistas.

Os animais, incluindo os seres humanos, geralmente são livres de micro-organismos quando no útero materno. Ao nascimento, no entanto, populações microbianas normais e características começam a se estabelecer. Imediatamente antes de a mulher dar a luz, lactobacilos em sua vagina se multiplicam rapidamente. O primeiro contato entre o recém-nascido e os micro-organismos em geral ocorre com esses lactobacilos, que se tornam os micro-organismos predominantes no intestino do bebê. Com a respiração e o início da alimentação, mais micro-organismos são introduzidos no corpo do recém-nascido a partir do meio ambiente. Após o nascimento, *E. coli* e outras bactérias provenientes de alimentos começam a habitar o intestino. Esses micro-organismos permanecerão nesse sítio para o resto da vida do indivíduo e, em resposta a condições ambientais anormais, podem aumentar ou diminuir seu número e contribuir para o surgimento de doenças.

Muitos outros micro-organismos normalmente inócuos também se estabelecem em outras partes do corpo saudável de um indivíduo adulto e em sua superfície. O corpo humano possui, tipicamente, 1×10^{13} células próprias. No entanto, contém um número estimado de 1×10^{14} células bacterianas (ou 10 vezes mais células bacterianas do que células humanas). Isso nos dá uma ideia da abundância de micro-organismos que normalmente residem no corpo humano. Os micro-organismos que estabelecem uma residência mais ou menos permanente (colonizam), mas não geram doença em condições normais, são membros da **microbiota normal**, ou **flora normal**, do corpo (**Figura 14.1**). Outros, denominados **microbiota transiente**, podem estar presentes por vários dias, semanas ou mesmo meses, e depois desaparecem. Os micro-organismos não são encontrados em todo o corpo huma-

(a) Bactérias (esferas alaranjadas) na superfície do epitélio nasal

(b) Bactérias na superfície do estômago MEV 2 μm

(c) Bactérias no intestino grosso

2 μm

Figura 14.1 Representantes da microbiota normal em diferentes regiões do corpo.

P Qual o número de células da microbiota normal?

no, mas estão localizados em certas regiões, como mostrado na **Tabela 14.1**, página 402.

Muitos fatores determinam a distribuição e a composição da microbiota normal. Entre eles estão nutrientes, fatores físicos e químicos, defesas do organismo hospedeiro e fatores mecânicos. Os micróbios variam de acordo com os tipos de nutrientes que eles podem utilizar como fonte de energia. Consequentemente, esses micróbios colonizam apenas os sítios do corpo que podem supri-los com os nutrientes apropriados. Esses nutrientes podem ser derivados de produtos celulares secretados ou excretados, substâncias em fluidos corpóreos, células mortas e alimentos no trato gastrintestinal.

Vários fatores físicos e químicos influenciam o crescimento dos micro-organismos e, assim, a composição e o crescimento da flora normal. Entre esses fatores estão o pH, a presença de oxigênio e dióxido de carbono, a salinidade e a luz solar.

Será visto nos Capítulos 16 e 17 que o corpo humano possui certas defesas contra os micróbios. Essas defesas incluem uma variedade de moléculas e células ativadas que matam micróbios, inibem seu crescimento, impedem sua adesão às superfícies das células do hospedeiro e neutralizam toxinas produzidas pelos micróbios. Embora essas defesas sejam extremante importantes contra os patógenos, seu papel na determinação e na regulação da microbiota normal ainda não está claro.

Certas regiões do corpo estão sujeitas a forças mecânicas que podem afetar a colonização pela microbiota normal. Por exemplo, a ação de mastigação dos dentes e a movimentação da língua podem desalojar micro-organismos adsorvidos aos dentes e às superfícies mucosas. No trato gastrintestinal, o fluxo de saliva e secreções digestivas e os vários movimentos musculares da garganta, do esôfago, do estômago e dos intestinos podem remover micróbios desalojados. A ação de descarga da urina também pode remover micróbios soltos no trato urinário. No sistema respiratório, o muco prende micróbios, que são então propelidos em direção à garganta pelo movimento ciliar das células desse sítio para posterior eliminação.

As condições existentes em um determinado sítio do corpo humano variam de pessoa para pessoa. Entre os fatores que também afetam a microbiota normal estão idade, estado nutricional, dieta, estado de saúde, existência de deficiências, hospitalização, estado emocional, estresse, clima, localização geográfica, condições de higiene pessoal, condições socioeconômicas, ocupação e estilo de vida.

A microbiota normal principal em diferentes regiões do corpo e algumas das características distintivas de cada região estão listadas na Tabela 14.1. A microbiota normal também é discutida mais especificamente na Parte Quatro deste livro.

Animais sem microbiota podem ser obtidos e mantidos em condições laboratoriais. A maioria dos mamíferos livres de germes usados em pesquisa é obtida por sua criação em ambientes estéreis. Por um lado, pesquisas com animais livres de germes mostram que a presença de micróbios não é absolutamente necessária à vida animal. Por outro lado, as mesmas pesquisas mostram que animais livres de germes apresentam sistema imune subdesenvolvido e são extremamente suscetíveis a infecções e doenças severas. Animais livres de germes também requerem mais calorias e vitaminas em sua alimentação do que animais normais.

Relações entre a microbiota normal e o hospedeiro

Uma vez estabelecida, a microbiota normal pode beneficiar o hospedeiro ao impedir o crescimento de micro-organismos potencialmente perigosos. Esse fenômeno é conhecido como **antagonismo microbiano**, ou **exclusão competitiva**. O antagonismo microbiano envolve a competição entre micróbios. Uma consequência dessa competição é o fato de que a microbiota normal protege o hospedeiro contra a colonização por micróbios potencialmente patogênicos ao competir com eles por nutrientes, produzir substâncias prejudiciais aos micróbios invasores e afetar condições como o pH e a disponibilidade de oxigênio. Quando o equilíbrio entre a microbiota normal e os micróbios patogênicos é alterado, o resultado pode ser o surgimento de doenças. Por exemplo, a microbiota bacteriana normal da vagina de uma mulher adulta mantém o pH local em torno de 4. A presença da microbiota normal inibe o crescimento excessivo da levedura *Candida albicans*, que pode crescer quando o balanço entre a flora normal e os patógenos é alterado e o pH modificado. Se a população bacteriana é eliminada por antibióticos, pelo uso excessivo de ducha higiênica ou desodorantes, o pH da vagina é revertido até a neutralidade, condição em que a *C. albicans* floresce e se torna o micro-organismo predominante nesse local. Essa condição pode levar a uma forma de vaginite (infecção vaginal).

Outro exemplo de antagonismo microbiano ocorre no intestino grosso. Células de *E. coli* produzem bacteriocinas, proteínas que inibem o crescimento de outras bactérias da mesma espécie ou proximamente relacionadas, como as bactérias patogênicas *Salmonella* e *Shigella*. Uma bactéria que produz uma determinada bacteriocina não é afetada por ela, mas pode ser eliminada por outras. As bacteriocinas são usadas na microbiologia médica para auxiliar na identificação de diferentes cepas de bactérias. Essa identificação ajuda a determinar se um surto severo de doença infecciosa é causado por uma ou mais cepas de bactérias.

Um exemplo final envolve a bactéria *Clostridium difficile*, também presente no intestino grosso. A microbiota normal do intestino grosso inibe de maneira eficiente o crescimento de *C. difficile*, possivelmente tornando os receptores do hospedeiro indisponíveis para a bactéria, competindo por nutrientes, ou produzindo bacteriocinas. Entretanto, se a microbiota normal é eliminada (pelo uso de antibióticos, p. ex.), *C. difficile* pode se tornar um problema. Esse micróbio é responsável por quase todas as infecções gastrintestinais que se seguem à antibioticoterapia, gerando desde diarreias leves até colites (inflamação do colo) severas ou mesmo fatais.

A relação entre a microbiota normal e o hospedeiro é chamada de **simbiose**, uma relação entre dois organismos na qual pelo menos um é dependente do outro (**Figura 14.2**). Na relação simbiótica denominada **comensalismo**, um dos organismos se beneficia enquanto o outro não é afetado de forma alguma. Muitos micro-organismos que fazem parte de nossa microbiota normal são comensais, incluindo as corinebactérias, que habitam a superfície dos olhos, e certas micobactérias saprofíticas, que habitam os ouvidos e a genitália externa. Essas bactérias vivem em secreções e células descamadas e não trazem nenhum benefício ou prejuízo aparente para o hospedeiro.

Tabela 14.1 Representantes da microbiota normal por região do corpo

Região	Principais componentes	Comentários
Pele	*Propionibacterium, Staphylococcus, Corynebacterium, Micrococcus, Acinetobacter, Brevibacterium, Pityrosporum* (fungo), *Candida* (fungo), *Malassezia* (fungo)	■ A maioria dos micróbios em contato direto com a pele não se torna residente devido a secreções de glândulas de óleos e suor, que possuem propriedades antimicrobianas. ■ A queratina é uma barreira resistente, e o baixo pH da pele inibe muitos micróbios. ■ A pele também apresenta um conteúdo relativamente baixo de umidade.
Olhos (conjuntiva)	*Staphylococcus epidermidis, S. aureus*, difteroides, *Propionibacterium, Corynebacterium*, estreptococos, *Micrococcus*	■ A conjuntiva, uma continuação da pele ou membrana mucosa, contém basicamente a mesma microbiota encontrada na pele. ■ As lágrimas e o ato de piscar também eliminam alguns micróbios ou impedem que outros colonizem.

Nariz e garganta (sistema respiratório superior)
Olhos (conjuntiva)
Boca
Pele
Intestino grosso
Sistemas reprodutivo e urinário (uretra inferior em ambos os sexos e vagina nas mulheres)

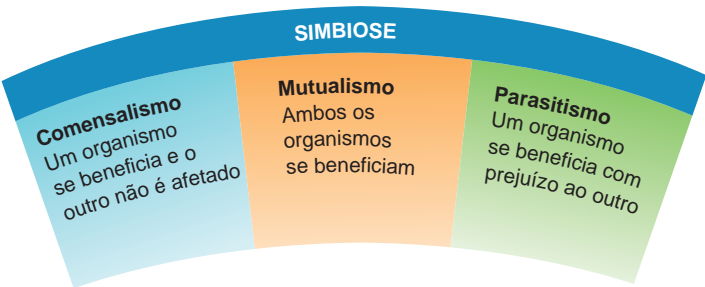



Figura 14.2 Simbiose.

P Que tipo de simbiose é melhor representada pela relação entre humanos e *E. coli*?

Mutualismo é um tipo de simbiose que beneficia ambos os organismos. Por exemplo, o intestino grosso contém bactérias, como a *E. coli*, que sintetizam vitamina K e algumas vitaminas do complexo B. Essas vitaminas são absorvidas pelos vasos sanguíneos e distribuídas para serem usadas pelas células do corpo. Em troca, o intestino grosso provê nutrientes usados pelas bactérias, garantindo sua sobrevivência.

O recente interesse na importância das bactérias para a saúde humana levou ao estudo dos probióticos. **Probióticos** (*pro* = para, *bios* = vida) são culturas de micróbios vivos que devem ser aplicadas ou ingeridas para que exerçam um efeito benéfico. Os probióticos podem ser administrados juntamente com prebióticos, substâncias químicas capazes de promover seletivamente o crescimento de bactérias benéficas. Diversos estudos têm mostrado que a ingestão de bactérias do ácido lático (BALs) pode aliviar a diarreia e prevenir a colonização por *Salmonella enterica* durante a antibioticoterapia. Se essas BALs colonizam o intestino grosso, o ácido lático e as bacteriocinas produzidas por elas podem inibir o crescimento de certos patógenos. Pesquisadores estão testando também o uso de BALs para

Tabela 14.1	Representantes da microbiota normal por região do corpo	
Região	**Principais componentes**	**Comentários**
Nariz e garganta (sistema respiratório superior)	*Staphylococcus aureus, S. epidermidis* e difteroides aeróbicos no nariz; *S. epidermidis, S. aureus*, difteroides, *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus* e *Neisseria* na garganta.	■ Embora alguns membros da microbiota normal sejam potenciais patógenos, sua habilidade em causar doença é reduzida pelo antagonismo microbiano. ■ Secreções nasais matam ou inibem muitos micro-organismos, enquanto o muco e os movimentos ciliares removem muitos micróbios.
Boca	*Streptococcus, Lactobacillus, Actinomyces, Bacteroides, Veillonella, Neisseria, Haemophilus, Fusobacterium, Treponema, Staphylococcus, Corynebacterium* e *Candida* (fungo).	■ Umidade abundante, calor e a presença constante de alimentos fazem da boca um ambiente ideal que suporta uma vasta e diversa população microbiana na língua, nas bochechas, nos dentes e nas gengivas. ■ Entretanto, as mordidas, a mastigação, os movimentos da língua e o fluxo de saliva desalojam diversos micróbios. A saliva contém várias substâncias antimicrobianas.
Intestino grosso	*Escherichia coli, Bacteroides, Fusobacterium, Lactobacillus, Enterococcus, Bifidobacterium, Enterobacter, Citrobacter, Proteus, Klebsiella, Candida* (fungo)	■ O intestino grosso contém os maiores números de micro-organismos da microbiota residente no corpo, principalmente em razão da disponibilidade de umidade e nutrientes. ■ O muco e a descamação periódica previnem que muitos micro-organismos colonizem o revestimento do trato gastrintestinal. Além disso, a mucosa produz uma série de substâncias antimicrobianas. ■ A diarreia também acaba por eliminar parte da microbiota normal.
Sistemas reprodutivo e urinário	*Staphylococcus, Micrococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Bacteroides,* difteroides aeróbicos, *Pseudomonas, Klebsiella* e *Proteus* na uretra; *Lactobacilli, Streptococcus, Clostridium, Candida albicans* (fungo) e *Trichomonas vaginalis* (protozoário) na vagina.	■ A parte proximal da uretra em ambos os sexos contém uma microbiota residente; a vagina possui uma população de micróbios ácido-tolerantes em virtude da natureza de suas secreções. ■ O muco e a descamação periódica previnem que muitos micro-organismos colonizem o revestimento do trato geniturinário; o fluxo de urina remove micróbios mecanicamente. Além disso, o pH da urina e a ureias são antimicrobianos. ■ Cílios e muco expelem micróbios da cervice uterina para a vagina, e a acidez da vagina inibe ou mata muitos micróbios.

prevenir infecções de feridas cirúrgicas causadas por *Staphylococcus aureus* e infecções vaginais causadas por *E. coli*. Em um estudo da Universidade de Stanford, nos Estados Unidos, a infecção por HIV foi reduzida em mulheres tratadas com uma cepa geneticamente modificada de BAL que produz a proteína CD4, a qual se liga ao HIV.

Em uma outra forma de simbiose, um organismo se beneficia da extração de nutrientes, com prejuízo ao outro organismo; esta relação é chamada de **parasitismo**. Muitas bactérias causadoras de doenças são parasitas.

Micro-organismos oportunistas

Embora a categorização das relações simbióticas por tipo seja conveniente, lembre-se de que, sob certas condições, as relações podem mudar. Por exemplo, em circunstâncias apropriadas, um organismo mutualístico como a *E. coli* pode se tornar prejudicial. A *E. coli* geralmente é inofensiva enquanto permanece no intestino delgado de seu hospedeiro; mas, ao acessar outras regiões do corpo, como o trato urinário, pulmões, medula espinal ou feridas, ela pode causar infecções urinárias, infecções pulmonares, meningites ou abscessos, respectivamente. Micróbios como a *E. coli* são chamados de **patógenos oportunistas**. Eles normalmente não causam doença quando presentes em seu habitat normal em uma pessoa saudável. Entretanto, podem gerar doença quando em diferentes ambientes. Por exemplo, micróbios que penetram o corpo através da quebra da barreira da pele ou das membranas mucosas podem causar infecções oportunísticas. Alternativamente, se o hospedeiro se encontra enfraquecido ou comprometido por uma infecção, micróbios que normalmente são inofensivos podem causar doença. A Aids com frequência é acompanhada por uma infecção oportunística comum, a pneumonia causada pelo organismo oportunista *Pneumocystis jirovecii* (veja a Figura 24.20, página 698). Essa infecção secundária pode se desenvolver em pacientes com Aids, uma vez que seu sistema imune está suprimido. Antes da epidemia de Aids, esse tipo de pneumonia era raro. Patógenos oportunistas possuem outras características que contribuem para sua habilidade em causar doença. Por exemplo, eles estão presentes dentro ou fora do organismo, ou no meio ambiente, em números relativamente altos. Alguns patógenos oportunistas podem ser encontrados em locais do corpo, interna ou externamente, que são relativamente protegidos das defesas do organismo, e algumas dessas regiões também não podem ser alcançadas por antibióticos.

Além dos simbiontes habituais, muitas pessoas transportam outros micro-organismos que geralmente são considerados como

patogênicos, mas que não causam doença nessas pessoas. Entre os patógenos frequentemente carreados por pessoas saudáveis estão os *ecovírus* (ou *Echovirus,* sendo *echo de enteric citopathogenic human orphan*), que podem causar doenças intestinais, e os *Adenovirus*, que podem causar doenças respiratórias. A *Neisseria meningitidis*, que frequentemente reside de forma benigna no trato respiratório, pode causar meningite, uma doença que leva à inflamação dos tecidos que recobrem a medula espinal e o cérebro. O *Streptococcus pneumoniae*, um residente normal do nariz e da garganta, pode causar um certo tipo de pneumonia.

Cooperação entre micro-organismos

Não é apenas a competição entre micróbios que pode causar doença; a cooperação entre micróbios também pode ser um fator importante na geração das doenças. Por exemplo, patógenos que causam a doença periodontal e a gengivite possuem receptores que não reconhecem os dentes em si, mas reconhecem os estreptococos que colonizam os dentes.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como a microbiota normal difere da microbiota residente? **14-2**

✓ Dê vários exemplos de antagonismo microbiano. **14-3**

✓ Como os patógenos oportunistas causam infecções? **14-4**

Etiologia das doenças infecciosas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

14-5 Listar os postulados de Koch.

Algumas doenças, como a pólio, a doença de Lyme e a tuberculose, possuem etiologia claramente definida. Outras doenças, no entanto, possuem uma etiologia que ainda não é totalmente compreendida; por exemplo, a relação entre certos vírus e câncer. Para algumas outras doenças, como a doença de Alzheimer, a etiologia é totalmente desconhecida. É claro, nem todas as doenças são causadas por micro-organismos. A hemofilia, por exemplo, é uma *doença hereditária* (*genética*); as osteoartrites e a cirrose são *doenças degenerativas*. Existem ainda várias outras categorias de doenças, mas discutiremos apenas as *doenças infecciosas*, ou seja, aquelas causadas por micro-organismos. Para perceber como os microbiologistas determinam a etiologia de uma doença, discutiremos em mais detalhe o trabalho de Robert Koch, introduzido no Capítulo 1 (páginas 9 a 11).

Postulados de Koch

Na revisão histórica da Microbiologia, apresentada no Capítulo 1, discutimos brevemente os famosos postulados de Koch. Lembre-se de que Koch foi um médico alemão que teve um papel importante no estabelecimento da ideia de que os micro-organismos podem causar doenças específicas. Em 1877, ele publicou alguns dos primeiros artigos sobre antraz, ou carbúnculo, uma doença do gado que também pode afetar os seres humanos. Koch demonstrou que certas bactérias, hoje conhecidas como *Bacillus anthracis*, sempre estiveram presentes no sangue de animais que tinham a doença e não estavam presentes em animais saudáveis. Ele sabia que a mera presença das bactérias não provava que elas haviam causado a doença; as bactérias poderiam estar como resultado da doença. Assim, ali continuou suas experiências.

Ele obteve uma amostra de sangue de um animal doente e injetou em um animal saudável. O segundo animal desenvolveu a mesma doença e morreu. Ele repetiu esse procedimento várias vezes, sempre obtendo os mesmos resultados. (Um critério-chave para a validação de qualquer prova científica se baseia no fato de que os resultados experimentais possam ser repetidos.) Koch também cultivou o micro-organismo em fluidos fora do corpo do animal, demonstrando que a bactéria causaria a infecção mesmo após muitas transferências de cultura.

Koch demonstrou que uma doença infecciosa específica (antraz) é causada por um micro-organismo (*B. anthracis*) que pode ser isolado e cultivado em meios artificiais. Depois ele utilizou o mesmo método para demonstrar que a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* é o agente causador da tuberculose.

A pesquisa de Koch fornece um modelo básico de estudo da etiologia de qualquer doença infecciosa. Hoje, nos referimos aos requerimentos experimentais de Koch como **postulados de Koch** (**Figura 14.3**). Eles podem ser resumidos da seguinte forma:

1. O mesmo patógeno deve estar presente em todos os casos da doença.
2. O patógeno deve ser isolado do hospedeiro doente e cultivado em cultura pura.
3. O patógeno obtido da cultura pura deve causar a doença quando inoculado em um animal de laboratório suscetível e saudável.
4. O patógeno deve ser isolado do animal inoculado e deve ser, necessariamente, o organismo original.

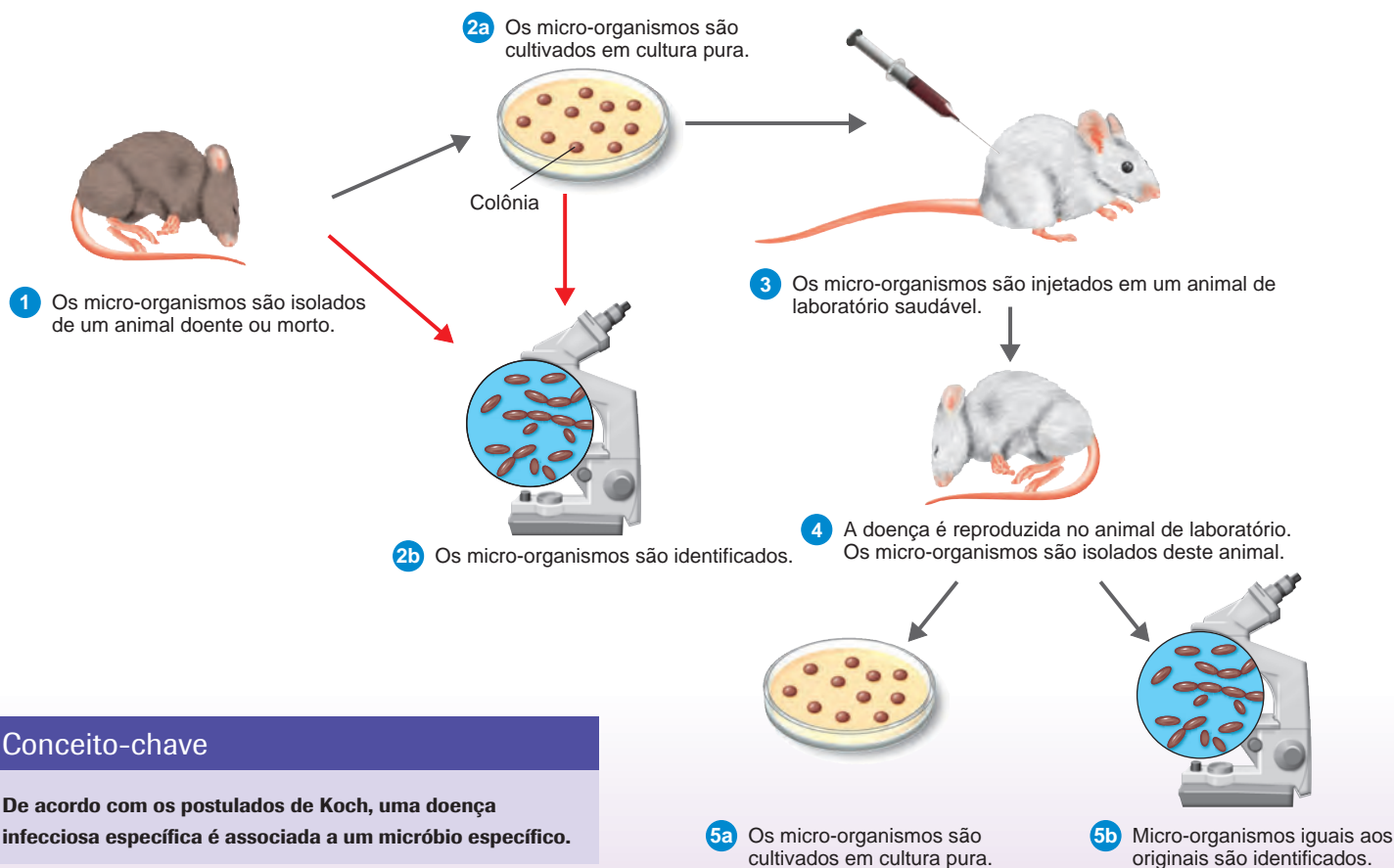
Exceções aos postulados de Koch

Embora os postulados de Koch sejam úteis para se determinar o agente causador da maioria das doenças bacterianas, existem algumas exceções para sua aplicação. Alguns micróbios, por exemplo, apresentam requerimentos nutricionais únicos para seu cultivo. A bactéria *Treponema pallidum* é conhecida por causar a sífilis, mas cepas virulentas nunca foram cultivadas em meios artificiais. O agente causador da lepra, o *Mycobacterium leprae*, também nunca foi cultivado em meio artificial. Além disso, patógenos virais e riquétsias não podem ser cultivados em meios artificiais, pois se multiplicam apenas dentro de células.

A descoberta de micro-organismos que não podem ser cultivados em meios artificiais exigiu algumas modificações nos postulados de Koch e o uso de métodos alternativos de cultivo e detecção de certos micróbios. Por exemplo, quando pesquisadores procuravam pela causa microbiana da legionelose (doença do Legionário), foram incapazes de isolar o micróbio diretamente de uma vítima da doença. Em vez disso, usaram a estratégia alternativa de inocular uma amostra de tecido pulmonar de uma vítima em cobaias (porquinhos-da-índia). Essas cobaias desenvolveram sintomas semelhantes à pneumonia, típicos da doença, ao passo que cobaias inoculadas com amostras de pessoas saudáveis não apresentaram sintomas. Em seguida, amostras de tecido das cobaias doentes foram cultivadas em gemas de ovos embrionados de galinha, um mé-

Figura 14.3

FIGURA FUNDAMENTAL Os postulados de Koch

Os postulados de Koch são usados para determinar a etiologia de uma doença, o que marca o início do tratamento e da prevenção, como será visto na Parte Quatro deste livro. Os microbiologistas usam estes passos para identificar a causa de doenças emergentes.

Conceito-chave

De acordo com os postulados de Koch, uma doença infecciosa específica é associada a um micróbio específico.

todo (veja a Figura 13.7, página 377) que revela o crescimento de micróbios extremamente pequenos. Depois que os embriões foram incubados, análises por microscopia eletrônica revelaram bactérias em forma de bacilos nos embriões. Finalmente, técnicas imunológicas modernas (discutidas no Capítulo 18) foram usadas para mostrar que as bactérias nos embriões de galinha eram as mesmas presentes nas cobaias e nos humanos afetados.

Em diversas situações, um hospedeiro humano pode exibir sinais e sintomas que estão associados a um determinado patógeno e sua doença. Os patógenos responsáveis pela difteria e pelo tétano, por exemplo, causam sinais e sintomas distintos e que nenhum outro micróbio pode produzir. Eles são, de maneira inequívoca, os únicos organismos que geram suas respectivas doenças. Entretanto, algumas doenças não são tão definidas e fornecem outra exceção aos postulados de Koch. A nefrite (inflamação dos rins), por exemplo, pode ser causada por vários patógenos diferentes, sendo que todos geram os mesmos sinais e sintomas. Assim, frequentemente é difícil saber que micro-organismo em particular está causando uma determinada doença. Outras doenças infecciosas que apresentam etiologias pouco definidas são as pneumonias, as meningites e as peritonites (inflamação do peritônio, a membrana que recobre o abdome e os órgãos em seu interior).

Além disso, outra exceção aos postulados de Koch resulta do fato de que alguns patógenos podem causar várias condições diferentes de doença. O *Mycobacterium tuberculosis*, por exemplo, está associado a doenças dos pulmões, da pele, dos ossos e dos órgãos internos. O *Streptococcus pyogenes* pode causar dores de garganta, febre escarlatina, infecções de pele (como as erisipelas) e osteomielite (inflamação nos ossos), entre outras doenças. Quando sinais e sintomas clínicos são utilizados em conjunto com métodos laboratoriais, essas infecções podem ser diferenciadas de outras infecções dos mesmos órgãos por outros patógenos.

Considerações éticas também podem impor exceções aos postulados de Koch. Alguns agentes que causam doenças em seres humanos, por exemplo, não possuem nenhum outro hospedeiro conhecido. Um exemplo é o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que causa a Aids. O fato levanta o questionamento ético: seres humanos podem ser intencionalmente inoculados com agentes infecciosos? Em 1721, o Rei George I disse a prisioneiros condenados que eles poderiam ser inoculados com o vírus da varíola com o objetivo de se testar uma vacina (veja o Capítulo 18). Caso eles sobrevivessem ao experimento, teriam a sua liberdade garantida. Hoje, porém, experiências humanas envolvendo doenças sem tratamento não são mais aceitas. Às vezes, inoculações acidentais acontecem. Por exemplo, um transplante de medula óssea satisfez inadvertidamente o terceiro postulado de Koch, demonstrando que um herpesvírus causa um certo tipo de câncer (veja a página 375).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Explique algumas exceções aos postulados de Koch. **14-5**

Classificação das doenças infecciosas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **14-6** Diferenciar uma doença comunicável de uma não comunicável.
- **14-7** Classificar as doenças de acordo com a frequência de ocorrência.
- **14-8** Classificar as doenças de acordo com a gravidade.
- **14-9** Definir *imunidade grupal*.

Toda doença que afeta o organismo altera suas estruturas e/ou funções de modo específico, e essas alterações são percebidas por diversos tipos de evidências. O paciente, por exemplo, pode apresentar certos **sintomas**, ou mudanças em funções corporais, como dor ou *indisposição* (um sentimento vago de desconforto corporal). Essas mudanças *subjetivas* não são aparentes a um observador. O paciente pode também exibir **sinais**, que são mudanças *objetivas* que o médico pode observar e medir. Sinais frequentemente avaliados incluem lesões (mudanças produzidas em um tecido pela doença), inchaços, febre e paralisia. Um grupo específico de sintomas e sinais pode acompanhar sempre uma doença em particular; esse grupo é então denominado **síndrome**. O diagnóstico de uma doença é feito pela avaliação dos sinais e sintomas, juntamente com resultados de testes laboratoriais.

Doenças frequentemente são classificadas em termos de como se comportam dentro de um hospedeiro e dentro de uma população específica. Qualquer doença que se dispersa de um hospedeiro a outro, tanto direta como indiretamente, é chamada de **doença comunicável**. Catapora, sarampo, herpes genital, febre tifoide e tuberculose também são exemplos de **doenças contagiosas**, isto é, *facilmente* transmitidas de uma pessoa à outra. Uma **doença não comunicável** não é transmitida de um hospedeiro a outro. Essas doenças são causadas por micro-organismos que normalmente habitam o corpo e apenas ocasionalmente causam doença, ou por micro-organismos que residem fora do corpo e causam doença apenas quando introduzidos no hospedeiro. Um exemplo desse último caso é o tétano: *Clostridium tetani* produz doença apenas quando é introduzido no corpo através de feridas ou abrasões.

Ocorrência de uma doença

Para compreender a abrangência total de uma doença, devemos saber um pouco sobre sua ocorrência. A **incidência** de uma doença representa o número de pessoas em uma população que desenvolve uma doença em um período específico. É um indicador da disseminação da doença. A **prevalência** de uma doença representa o número de pessoas em uma população que desenvolve uma doença em um tempo específico, independentemente de quando ela surgiu pela primeira vez. A prevalência leva em consideração tanto os casos antigos quanto os novos. É um indicador da gravidade e do tempo que a doença afeta uma população. Por exemplo, a incidência de Aids nos Estados Unidos em 2007 foi de 56.300 casos, ao passo que a prevalência da doença no mesmo ano foi de 1.185.000 casos. O conhecimento da incidência e da prevalência de uma doença em diferentes populações (p. ex., em populações representando diferentes regiões geográficas ou diferentes grupos étnicos) permite aos cientistas estimar o alcance da ocorrência da doença e sua tendência em afetar determinados grupos de pessoas de forma mais intensa do que outros.

A frequência de ocorrência é outro critério utilizado na classificação de uma doença. Se uma determinada doença acontece apenas ocasionalmente, ela é chamada de **doença esporádica**; a febre tifoide nos Estados Unidos é um exemplo. Uma doença constantemente presente em uma população é chamada de **doença endêmica**; um exemplo é o resfriado comum. Se muitas pessoas em uma dada região adquirem certa doença em um período de tempo relativamente curto, ela é denominada **doença epidêmica**; a gripe causada pelo vírus influenza é um exemplo de doença que frequentemente atinge um estado epidêmico. A **Figura 14.4** mostra a incidência epidêmica da Aids nos Estados Unidos. Algumas autoridades consideram que a ocorrência de gonorreia e de algumas outras doenças sexualmente transmissíveis também já atingiu o estado epidêmico neste momento (veja as Figuras 26.5 e 26.6, página 749).* Uma **doença epidêmica** que atinge toda população mundial é chamada de doença pandêmica. Vivenciamos pandemias causadas pelo vírus influenza de tempos em tempos.** Algumas autoridades também consideram a Aids como uma doença pandêmica.

Gravidade e duração de uma doença

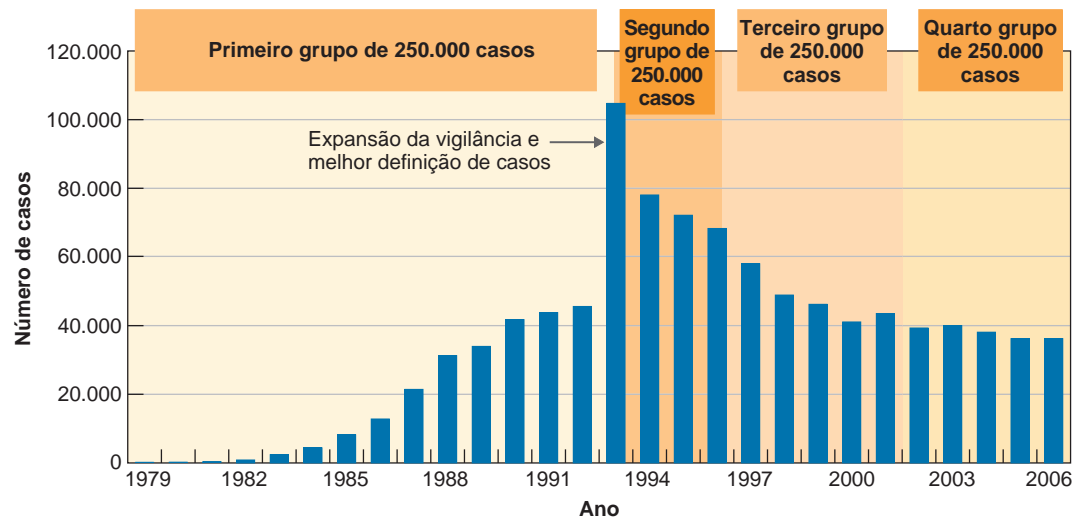
Outros critérios úteis para a definição da abrangência de uma doença são sua gravidade e duração. Uma **doença aguda** é aquela que se desenvolve rapidamente, porém dura apenas um período curto; um bom exemplo é a gripe.

Uma **doença crônica** se desenvolve mais lentamente, e as reações do corpo podem ser menos graves, porém a doença provavelmente apresentará recorrências por longos períodos. A mononucleose infecciosa, a tuberculose e a hepatite B são doenças que se encaixam nessa categoria. Uma doença intermediária

* N. de R. T. No Brasil, a meningite meningocócica, a dengue e a rubéola são doenças que atingiram caráter epidêmico em diferentes momentos até o ano de 2009.

** N. de R. T. Esse é o caso da pandemia do vírus H1N1, influenza A, que surgiu como a primeira pandemia do século XXI.

Figura 14.4 Casos relatados de Aids nos Estados Unidos. Note que o primeiro grupo de 250.000 casos ocorreu em um período de 12 anos, enquanto o segundo grupo de 250.000 casos ocorreu em um período de apenas 3 a 6 anos. Muito do aumento visto após 1993 se deve à expansão da definição de casos de Aids, adotada naquele ano. Fonte: CDC.

P Qual a incidência de Aids em 2004 nos Estados Unidos?

entre aguda e crônica é descrita como **doença subaguda**; um exemplo é a panencefalite esclerosante, uma doença cerebral rara caracterizada por diminuição da atividade intelectual e perda da função nervosa. Uma **doença latente** é aquela na qual o agente causador permanece inativo por algum tempo, mas então se torna ativo novamente, gerando sintomas da doença; um exemplo é o herpes zoster, uma das doenças causadas pelo vírus varicela-zoster.

A taxa na qual uma doença ou uma epidemia se dissemina e o número de indivíduos afetados são determinados, pelo menos em parte, pela imunidade da população. A vacinação pode promover a geração de imunidade de longa duração, algumas vezes para a vida inteira, protegendo um indivíduo contra certas doenças. As pessoas que são imunes a uma doença infecciosa não serão portadoras, reduzindo, portanto, a ocorrência da doença. Os indivíduos imunes funcionam como uma barreira para a disseminação de agentes infecciosos. Mesmo quando uma doença altamente comunicante apresenta o potencial para causar uma epidemia, muitas pessoas não imunes estarão protegidas, devido à baixa probabilidade de entrarem em contato com uma pessoa infectada. Uma grande vantagem da vacinação é que um número suficiente de indivíduos em uma população estará protegido da doença, impedindo sua disseminação rápida para aqueles que não estão vacinados. Quando muitas pessoas imunes estão presentes em uma comunidade, existe **imunidade grupal**.

Extensão do envolvimento do hospedeiro

As infecções também podem ser classificadas de acordo com a extensão em que o organismo do hospedeiro é afetado. Uma **infecção local** é aquela na qual os micro-organismos invasores se limitam a uma área relativamente pequena do corpo. Alguns exemplos de infecções locais incluem abscessos e furunculoses. Em uma **infecção sistêmica** (**generalizada**), os micro-organismos e seus produtos se dispersam por todo o corpo através do sangue ou da linfa. O sarampo é um exemplo de infecção sistêmica. Muito frequentemente, agentes causadores de infecções locais entram na corrente sanguínea ou nos vasos linfáticos e se disseminam para outras partes específicas do corpo, onde permanecem confinados. Essa condição é chamada de **infecção focal**. Infecções focais podem surgir de infecções em áreas como os dentes, as tonsilas ou os seios da face.

A **sepse** é uma condição inflamatória tóxica que surge da dispersão de micróbios, especialmente bactérias e suas toxinas, a partir de um foco de infecção. A **septicemia**, também conhecida como envenenamento sanguíneo, é uma infecção sistêmica que surge da multiplicação de patógenos no sangue, sendo um exemplo comum de sepse. A presença de bactérias no sangue é conhecida como **bacteremia**. **Toxemia** e **viremia** referem-se à presença de toxinas e vírus no sangue, respectivamente.

O estado de resistência do hospedeiro também determina a extensão das infecções. Uma **infecção primária** é uma infecção aguda que causa doença inicial. Uma **infecção secundária** é aquela causada por um patógeno oportunista, depois que a infecção primária já enfraqueceu as defesas do organismo hospedeiro. Infecções secundárias da pele e do trato respiratório são comuns e eventualmente mais perigosas que a infecção primária. A pneumonia por *Pneumocystis* como consequência da Aids é um exemplo de infecção secundária; a broncopneumonia estreptocócica após um caso de influenza é um exemplo de infecção secundária mais grave que a infecção primária. Uma **infecção subclínica** (**inaparente**) é aquela que não causa qualquer doença detectável. O poliovírus e o vírus da hepatite A, por exemplo, podem ser carreados por pessoas que nunca desenvolveram a doença.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O *Clostridium perfringens* (página 646) pode causar uma doença comunicante? **14-6**
- ✓ Faça a distinção entre a incidência e a prevalência de uma doença. **14-7**
- ✓ Liste dois exemplos de doenças agudas e crônicas. **14-8**
- ✓ Como a imunidade grupal se desenvolve? **14-9**

Padrões de doença

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

14-10 Identificar quatro fatores predisponentes de uma doença.

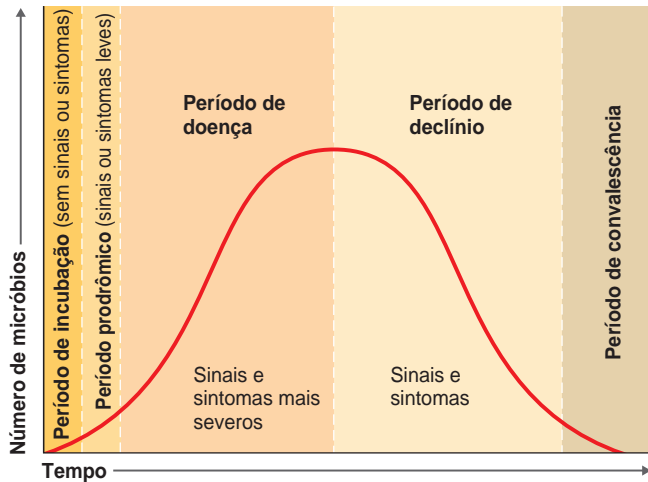



Figura 14.5 Os estágios de uma doença.

P Em quais períodos uma doença pode ser transmitida?

14-11 Colocar os seguintes parâmetros na sequência apropriada, de acordo com o padrão de doença: período de declínio, período de convalescência, período de doença, período prodrômico, período de incubação.

Uma sequência de eventos definida normalmente acontece durante a infecção e a doença. Como você aprenderá em breve, para que uma doença infecciosa ocorra, é necessário que exista um reservatório de infecção como fonte do patógeno. Em seguida, o patógeno deve ser transmitido a um hospedeiro suscetível por contato direto, contato indireto ou vetores. A transmissão é seguida pela invasão, em que o micro-organismo penetra no hospedeiro e se multiplica. Após a invasão, o micro-organismo causa danos ao hospedeiro por um processo chamado de patogênese (discutido no próximo capítulo). A extensão dos danos depende do grau em que as células do hospedeiro são danificadas, diretamente ou pela ação de toxinas. Apesar dos efeitos de todos estes fatores, a ocorrência de uma doença vai depender finalmente da resistência do hospedeiro às atividades do patógeno.

Fatores predisponentes

Certos fatores predisponentes também afetam a ocorrência de uma doença. Um **fator predisponente** é aquele que torna o corpo mais suscetível a uma doença e pode alterar seu curso. O sexo algumas vezes é um fator predisponente. As mulheres, por exemplo, apresentam uma maior incidência de infecções urinárias que os homens. Por outro lado, os homens apresentam maiores taxas de ocorrência de pneumonia e meningite. Outros aspectos de fundo genético podem desempenhar um papel semelhante. A doença falciforme, por exemplo, é uma forma severa e muitas vezes fatal de anemia que ocorre quando os genes responsáveis pela doença são herdados de ambos os pais. Indivíduos que carregam apenas um gene da doença falciforme apresentam uma condição denominada traço falciforme e são considerados normais, a não ser que sejam realizados testes especiais. No entanto, esses indivíduos são resistentes à maioria das formas graves da malária. Nesses casos, a possibilidade de que indivíduos possam herdar genes potencialmente letais em uma população é contrabalanceada pela proteção contra malária entre os portadores do gene para o traço falciforme. É claro que, em países onde a malária não está presente, o traço falciforme é uma condição inteiramente negativa.

Condições climáticas parecem ter algum efeito na incidência de doenças infecciosas. Em regiões temperadas, a incidência de doenças respiratórias aumenta durante o inverno. Esse aumento pode estar relacionado ao fato de que, quando as pessoas permanecem em ambientes fechados, o contato entre elas facilita a disseminação dos patógenos respiratórios.

Outros fatores predisponentes incluem nutrição inadequada, fadiga, idade, meio ambiente, hábitos, estilo de vida, ocupação, doenças preexistentes, quimioterapia e distúrbios emocionais. Frequentemente é difícil saber a importância relativa exata dos vários fatores predisponentes.

Desenvolvimento da doença

Uma vez que o micro-organismo suplanta as defesas do hospedeiro, o desenvolvimento da doença segue certa sequência, que tende a ser similar, independentemente de a doença ser aguda ou crônica (**Figura 14.5**).

Período de incubação

O **período de incubação** é o intervalo entre a infecção inicial e o surgimento dos primeiros sinais e sintomas. Em algumas doenças, o período de incubação é sempre o mesmo; em outras, ele varia consideravelmente. O tempo de incubação depende do tipo específico de micro-organismo envolvido, de sua virulência (grau de patogenicidade), do número de micro-organismos infectantes e da resistência do hospedeiro (veja a Tabela 15.1, página 430, para o período de incubação de várias doenças microbianas).

Período prodrômico

O **período prodrômico** consiste em um período relativamente curto que se segue ao período de incubação de algumas doenças. Ele é caracterizado pelo surgimento de sintomas precoces e leves de doença, como dores e indisposição.

Período de doença

Durante o **período de doença**, o quadro é mais severo. A pessoa exibe sinais e sintomas claros, como febre, calafrios, dores musculares (mialgia), sensibilidade à luz (fotofobia), dor de garganta (faringite), inchaço dos linfonodos (linfadenopatia) e distúrbios gastrintestinais. Durante o período de doença, o número de leucócitos pode aumentar ou diminuir. Geralmente, as respostas imunológicas e outros mecanismos de defesa do paciente suplantam o patógeno, o que demarca o fim do período de doença. Quando a doença não é controlada (ou tratada) com sucesso, o paciente morre durante esse período.

Período de declínio

Durante o **período de declínio**, os sinais e sintomas perdem a intensidade, e a febre diminui, assim como a sensação de indisposição. Nessa fase, que pode durar de menos de 24 horas a vários dias, o paciente se encontra vulnerável a infecções secundárias.

Período de convalescência

Durante o **período de convalescência**, a pessoa recobra sua força e o organismo retorna ao estado anterior à doença. Ocorre a recuperação.

Todos sabem os que, durante o período de doença, as pessoas podem servir como reservatório do patógeno, podendo disseminar rapidamente a infecção para outras pessoas. Entretanto, você também deve saber que as pessoas podem transmitir infecções durante os períodos de incubação e convalescência. Esse fato é especialmente verdadeiro nos casos de doenças como a cólera e a febre tifoide, em que os pacientes convalescentes podem carrear os micro-organismos patogênicos por meses ou mesmo anos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O que é um fator predisponente? **14-10**

✓ O período de incubação do resfriado é de cerca de três dias, e o período de doença dura em torno de cinco dias. Se uma pessoa próxima a você está resfriada, quando você saberá se contraiu ou não a doença? **14-11**

Disseminação da infecção

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

14-12 Definir reservatório de infecção.

14-13 Contrastar reservatórios, humanos, animais e inanimados e dar um exemplo de cada.

14-14 Explicar três modos de transmissão de doenças.

Agora que você já tem conhecimento sobre a microbiota normal, a etiologia e os tipos de doenças infecciosas, examinaremos as fontes de patógenos e como eles são transmitidos.

Reservatórios de infecção

Para que uma doença se perpetue, é necessária a existência de uma fonte contínua do organismo causador da doença. Essa fonte pode ser um organismo vivo ou um objeto inanimado que fornece ao patógeno condições adequadas de sobrevivência e multiplicação, assim como a oportunidade de ser transmitido. Essa fonte é denominada **reservatório de infecção**. Esses reservatórios podem ser humanos, animais ou inanimados.

Reservatórios humanos

O principal reservatório vivo de doenças humanas é o próprio corpo humano. Muitas pessoas hospedam patógenos e os transmitem direta ou indiretamente para outros indivíduos. Pessoas que apresentam sinais e sintomas de uma doença podem transmiti-la; além disso, algumas pessoas podem hospedar e transmitir patógenos sem exibir qualquer sinal ou sintoma de doença. Essas pessoas, denominadas **carreadores**, são importantes reservatórios vivos de infecção. Alguns carreadores possuem infecções inaparentes, sem nunca exibir sinais ou sintomas de doença. Outros, como aqueles que apresentam infecções latentes, carreiam a doença durante os estágios livres de sintomas, durante o período de incubação (antes do surgimento dos sintomas) ou durante o período de convalescência (recuperação). Mary Typhoid é um exemplo de carreador (página 714). Os carreadores humanos desempenham um papel fundamental na dispersão de doenças como Aids, difteria, febre tifoide, hepatite, gonorreia, amebíase e infecções estreptocócicas.

Reservatórios animais

Tanto animais domésticos quanto silvestres podem ser reservatórios vivos de micro-organismos que causam doenças em seres humanos. Doenças que ocorrem principalmente em animais, domésticos ou silvestres, e podem ser transmitidas a pessoas são chamadas de **zoonoses**. A raiva (encontrada em morcegos, gambás, raposas e cães) e a doença de Lyme (encontrada em camundongos do campo) são exemplos de zoonoses. Outras zoonoses importantes estão representadas na **Tabela 14.2**.

Atualmente são conhecidas cerca de 150 zoonoses. A transmissão aos seres humanos pode ocorrer de várias maneiras: por contato direto com animais infectados; por contato direto com detritos de animais domésticos (como ao limpar uma caixa de areia ou gaiola); pela contaminação de água ou alimentos; pelo ar, através de pelos ou penas; pelo consumo de produtos derivados de animais infectados; ou por insetos vetores (insetos que transmitem patógenos).

Reservatórios inanimados

Os dois maiores reservatórios inanimados de doenças infecciosas são a água e o solo. O solo contém patógenos como os fungos, que causam micoses, incluindo as tinhas e as infecções sistêmicas; o *Clostridium botulinum*, a bactéria que causa o botulismo; e o *C. tetani*, agente etiológico do tétano. Devido ao fato de ambas as espécies de *Clostridium* fazerem parte da microbiota normal do intestino de cavalos e gado, essas bactérias são encontradas especialmente em solos onde as fezes desses animais são usadas como fertilizante.

A água contaminada por fezes de seres humanos ou animais é o reservatório de diversos patógenos, em especial aqueles responsáveis por doenças gastrintestinais, incluindo o *Vibrio cholerae*, que causa a cólera, e a *Salmonella typhi*, que causa a febre tifoide. Outra importante fonte de infecções são alimentos preparados ou armazenados de modo inadequado. Eles podem ser fonte de doenças como a triquinelose e a salmonelose.

Transmissão de doenças

Os agentes etiológicos das doenças podem ser transmitidos do reservatório de infecção para um hospedeiro suscetível por três vias principais: contato, veículos ou vetores.

Transmissão por contato

A **transmissão por contato** é a disseminação de um agente infeccioso por contato direto, indireto ou através de gotículas. A **transmissão por contato direto**, também chamada de *transmissão pessoa a pessoa*, é a transmissão direta de um agente por contato físico entre sua fonte e um hospedeiro susceptível, não havendo envolvimento de um objeto intermediário (**Figura 14.6b**). As formas mais comuns de transmissão por contato direto são toque, beijo e relação sexual. Entre as doenças que podem ser transmitidas desse modo estão doenças virais do trato respiratório (gripes e resfriados), infecções estafilocócicas, hepatite A, sarampo, escarlatina e doenças sexualmente transmissíveis (sífilis, gonorreia

Tabela 14.2 Exemplos de zoonoses

Doença	Agente causador	Reservatório	Modo de transmissão	Capítulo de referência
Viral				
Influenza (alguns tipos)	*Influenzavirus*	Porcos, aves	Contato direto	24
Raiva	*Lyssavirus*	Morcegos, gambás, raposas, cães, guaxinins	Contato direto (mordida)	22
Encefalite do Oeste do Nilo	*Flavivirus*	Cavalos, aves	Picada dos mosquitos *Aedes* e *Culex*	22
Síndrome pulmonar por hantavírus	*Hantavirus*	Roedores (principalmente o rato-veadeiro – *Peromyscus spp.*)	Contato direto com saliva, urina ou fezes de roedores	23
Bacteriana				
Antraz	*Bacillus anthracis*	Gado	Contato direto com animais ou couros contaminados; ar; alimentos	23
Brucelose	*Brucella* spp.	Gado	Contato direto com leite, carne ou animais contaminados	23
Peste bubônica	*Yersinia pestis*	Roedores	Picada de pulga	23
Doença da arranhadura do gato	*Bartonella henselae*	Gatos domésticos	Contato direto	23
Erliquiose monocítica equina	*Ehrlichia* spp.	Cervos, roedores	Picada de carrapato	23
Leptospirose	*Leptospira*	Mamíferos selvagens, cães e gatos domésticos	Contato direto com urina, solo e água	26
Doença de Lyme	*Borrelia burgdorferi*	Camundongos do campo	Picada de carrapato	23
Psitacose	*Chlamydophila psittaci*	Aves, especialmente papagaios	Contato direto	24
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	*Rickettsia rickettsii*	Roedores	Picada de carrapato	23
Salmonelose	*Salmonella enterica*	Aves domésticas, répteis	Ingestão de alimentos ou água contaminada; levar a mão à boca	25
Tifo endêmico	*Rickettsia typhi*	Roedores	Picada de pulga	23
Fúngica				
Tínea	*Trichophyton* *Microsporum* *Epidermophyton*	Mamíferos domésticos	Contato direto; fômites (objetos inanimados)	21
Protozoótica				
Malária	*Plasmodium* spp.	Macacos	Picada do mosquito *Anopheles*	23
Toxoplasmose	*Toxoplasma gondii*	Gatos e outros mamíferos	Ingestão de carne contaminada ou contato direto com fezes ou tecidos infectados	23
Helmíntica				
Cisticercose	*Taenia solium*	Porcos	Ingestão de carne de porco contaminada mal-cozida	25
Triquinelose	*Trichinella spiralis*	Porcos, ursos	Ingestão de carne de porco contaminada mal-cozida	25

e herpes genital). O contato direto também é uma forma de transmissão da Aids e da mononucleose infecciosa. Para se proteger contra a transmissão pessoa a pessoa, profissionais da saúde devem usar luvas e outras medidas protetoras (**Figura 14.6b**). Patógenos potenciais também podem ser transmitidos por contato direto entre animais (ou produtos de origem animal) e seres humanos. Os agentes causadores da raiva e do antraz são exemplos.

A **transmissão por contato indireto** ocorre quando o agente da doença infecciosa é transmitido de seu reservatório a um hospedeiro suscetível, por meio de um objeto inanimado. O termo geral para qualquer objeto inanimado envolvido na disseminação de uma doença é **fômite**. Exemplos de fômites incluem tecidos, lenços, toalhas, roupa de cama, fraldas, copos, talheres, brinquedos, dinheiro e termômetros (**Figura 14.6c**). Seringas

(a) Transmissão por contato direto

(b) Prevenção contra a transmissão por contato direto pelo uso de luvas, máscaras e protetores faciais

(c) Transmissão por contato indireto

(d) Transmissão por gotículas ou perdigotos

Figura 14.6 Transmissão por contato.

P Você poderia nomear uma doença transmitida por contato direto, uma por contato indireto e uma por gotículas ou perdigotos?

contaminadas funcionam como fômites para a transmissão da Aids e da hepatite B. Outros fômites podem transmitir doenças como o tétano.

A **transmissão por gotículas** é o terceiro tipo de transmissão por contato em que os micróbios são disseminados em perdigotos (gotículas de saliva e muco) que percorrem distâncias curtas (Figura 14.6d). Essas gotículas são descarregadas no ar por tosse, espirro, fala ou risada e percorrem menos de um metro do reservatório ao novo hospedeiro. Um único espirro pode produzir até 20.000 perdigotos. Agentes de doenças que percorrem distâncias tão curtas não são considerados como transmitidos pelo ar (discutido a seguir). Exemplos de doenças transmitidas por gotículas ou perdigotos são a gripe, a pneumonia e a coqueluche (tosse comprida).

Transmissão por veículo

A **transmissão por veículo** é a dispersão de um agente infeccioso por um meio como água, alimento ou ar (Figura 14.7). Outros meios incluem o sangue ou outros fluidos corporais, as drogas e os fluidos intravenosos. Um surto de infecção por *Salmonella,* originado de transmissão por veículo, é descrito em um quadro no Capítulo 25 (página 715). Aqui, discutiremos a transmissão por veículos como a água, os alimentos e o ar.

Na *transmissão pela água*, os patógenos em geral são disseminados por águas contaminadas com esgoto não tratado. Doenças transmitidas dessa forma incluem a cólera, a shigelose (disenteria bacilar) e a leptospirose. Na *transmissão por alimentos*, os patógenos em geral são transmitidos por alimentos crus, mal cozidos, mal refrigerados ou preparados em condições sanitárias impróprias.

(a) Água

(b) Alimento

(c) Ar

Figura 14.7 **Transmissão por veículos.**

P **Como a transmissão por veículo difere da transmissão por contato?**

Os patógenos transmitidos por alimentos contaminados causam doenças como a intoxicação alimentar, a infestação pela solitária e a cisticercose.

A *transmissão pelo ar* se refere à dispersão de agentes infecciosos por gotículas e perdigotos em partículas de sujeira que percorrem mais de 1 metro do reservatório ao novo hospedeiro. Por exemplo, os micróbios podem ser disseminados por gotículas e perdigotos minúsculos, eliminados pela boca e pelo nariz durante a tosse e o espirro (veja a Figura 14.6d). Essas gotículas são pequenas o suficiente para permanecerem no ar por períodos prolongados. O vírus que causa o sarampo e a bactéria que causa a tuberculose podem ser transmitidos por via aérea. Partículas de sujeira podem abrigar muitos patógenos. Estafilococos e estreptococos podem sobreviver nessas partículas e então ser transmitidos pelo ar. Esporos produzidos por certos fungos também são transmitidos por via aérea e causam doenças como a histoplasmose, a coccidioidomicose e a blastomicose (veja o Capítulo 24).

Vetores

Os artrópodes formam o mais importante grupo de **vetores** de doenças – animais que transportam patógenos de um hospedeiro a outro (insetos e outros vetores artrópodes são discutidos no Capítulo 12, página 361). Os vetores artrópodes podem transmitir doenças por dois mecanismos. A **transmissão mecânica** é o transporte passivo de patógenos nas patas ou outras partes do corpo do inseto (**Figura 14.8**). Se o inseto entrar em contato como alimento de um hospedeiro, os patógenos podem ser transferidos ao alimento e mais tarde ser ingeridos pelo hospedeiro. As moscas domésticas, por exemplo, podem transferir os patógenos causadores da febre tifoide e da disenteria bacilar de fezes contaminadas para os alimentos.

A **transmissão biológica** é um processo ativo e mais complexo. O artrópode pica uma pessoa ou animal e ingere sangue contaminado (veja a Figura 12.30, página 362). Os patógenos então se reproduzem no vetor, e o aumento do número de patógenos multiplica as chances de serem transmitidos para outro hospedeiro. Alguns parasitas se reproduzem no trato digestório do artrópode e podem ser eliminados com as fezes. Se o artrópode defeca ou vomita enquanto pica o hospedeiro em potencial, o parasita pode entrar no ferimento gerado pela picada. Outros parasitas se reproduzem no trato digestório do vetor e migram para as glândulas salivares, podendo ser diretamente injetados no novo hospedeiro através da picada. Alguns protozoários e helmintos utilizam o vetor como

Figura 14.8 **Transmissão mecânica.**

P **Quais as diferenças entre a transmissão mecânica e a transmissão biológica?**

Tabela 14.3 Exemplos de vetores artrópodes e as doenças que eles transmitem

Doença	Agente causador	Vetor artrópode	Capítulo de referência
Malária	*Plasmodium* spp.	*Anopheles* (mosquito)	23
Tripanossomíase africana (doença do sono)	*Trypanosoma brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense*	*Glossina* (mosca tsé-tsé)	22
Doença de Chagas	*T. cruzi*	*Triatoma* (barbeiro)	23
Febre amarela	*Alphavirus* (vírus da febre amarela)	*Aedes* (mosquito)	23
Dengue	*Alphavirus* (vírus da dengue)	*A. aegypti* (mosquito)	23
Encefalite equina venezuelana (ou encefalite equina do oeste)	*Alphavirus* (vírus da encefalite equina)	*Culex* (mosquito)	22
Erliquiose monocítica equina	*Ehrlichia* spp.	*Ixodes* spp. (carrapato)	23
Tifo epidêmico	*Rickettsia prowazekii*	*Pediculus humanus* (piolho)	23
Tifo murino endêmico	*R. typhi*	*Xenopsylla cheopsis* (pulga de rato)	23
Febre maculosa	*R. ricketsii*	*Dermacentor andersoni* e outras espécies (carrapato)	23
Peste bubônica	*Yersinia pestis*	*X. cheopsis* (pulga de rato)	23
Febre recorrente	*Borrelia* spp.	*Ornithodorus* spp. (carrapato mole)	23
Doença de Lyme	*B. burgdorferi*	*Ixodes* spp. (carrapato)	23

hospedeiro para o desenvolvimento de determinados estágios de seu ciclo de vida.

A **Tabela 14.3** lista alguns importantes vetores artrópodes e as doenças que eles transmitem.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que os carreadores são importantes reservatórios de infecções? **14-12**
- ✓ Como as zoonoses são transmitidas aos seres humanos? **14-13**
- ✓ Dê um exemplo de transmissão por contato, transmissão por veículo, transmissão mecânica e transmissão biológica. **14-14**

Infecções nosocomiais (adquiridas em hospitais)

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

14-15 Definir infecção nosocomial e explicar sua importância.

14-16 Definir hospedeiro comprometido.

14-17 Listar diversos métodos de transmissão de doenças em hospitais.

14-18 Explicar como as infecções nosocomiais podem ser prevenidas.

P&R Uma **infecção nosocomial** não apresenta qualquer evidência de estar presente ou em incubação no momento da admissão do paciente a um hospital. Essa infecção é adquirida como resultado de uma hospitalização (o termo *nosocomial* é derivado da palavra grega para hospital, incluindo também infecções adquiridas em casas de repouso ou outros estabelecimentos para cuidados de saúde).

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) estima que cerca de 5 a 15% de todos os pacientes em hospitais adquirem alguma forma de infecção nosocomial. O trabalho de pioneiros em técnicas assépticas, como Lister e Semmelweis (Capítulo 1, página 11), diminuiu consideravelmente a taxa de ocorrência de infecções desse tipo. Entretanto, apesar das modernas técnicas de esterilização e do uso de materiais descartáveis, as taxas de infecções nosocomiais aumentaram cerca de 36% nos últimos 20 anos. Somente nos Estados Unidos, em torno de 2 milhões de pessoas contraem infecções nosocomiais todos os anos, e cerca de 20.000 morrem como resultado delas. As infecções nosocomiais representam a oitava causa de morte nos Estados Unidos (sendo que as três primeiras são doenças do coração, câncer e derrame).

As infecções nosocomiais resultam da interação de diversos fatores: (1) a existência de micro-organismos nos ambientes hospitalares, (2) a presença de hospedeiros em condições comprometidas (ou enfraquecidos), e (3) a cadeia de transmissão no hospital. A **Figura 14.9** ilustra que a presença de qualquer um desses fatores isoladamente não é suficiente para que a infecção ocorra; é a interação dos três fatores que passa a representar um risco significativo de ocorrência de infecções nosocomiais.

Micro-organismos no hospital

Embora muitos esforços sejam feitos para matar ou impedir o crescimento de micro-organismos em hospitais, o ambiente hospitalar é um reservatório importante de uma variedade de patógenos. Uma razão é o fato de que determinados micro-organismos da microbiota normal do corpo humano são oportunistas e re-

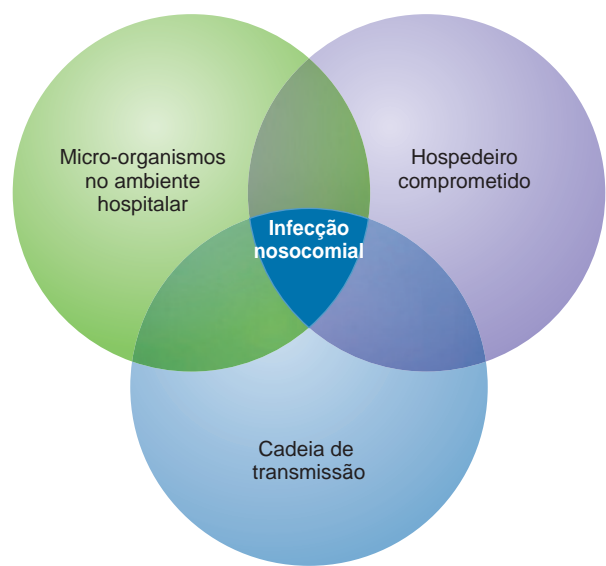



Figura 14.9 **Infecções nosocomiais.**

P **O que é uma infecção nosocomial?**

presentam um risco particularmente grande para pacientes internados. De fato, a maioria dos micróbios que causam infecções nosocomiais não provoca doença em pessoas saudáveis, mas pode ser patogênica somente para indivíduos cujas defesas foram enfraquecidas por doenças ou terapia (veja os quadros nas páginas 201 e 422).

Nas décadas de 1940 e 1950, a maioria das infecções nosocomiais era causada por bactérias gram-positivas. Em um determinado momento, a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* foi a principal causa das infecções nosocomiais. Na década de 1970, bacilos gram-negativos como *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* se tornaram as causas mais comuns dessas infecções. Então, durante os anos de 1980, as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulase-negativos (veja a página 432) e *Enterococcus* spp., resistentes a antibióticos, surgiram como patógenos nosocomiais. Na década de 1990, essas bactérias gram-positivas representaram 34% das infecções nosocomiais, enquanto quatro espécies de bactérias gram-negativas representaram 32% dessas infecções. Em 2000, a resistência a antibióticos em infecções nosocomiais se tornou um problema extremamente sério. Os principais micro-organismos envolvidos nas infecções nosocomiais estão resumidos na **Tabela 14.4.**

Além de serem oportunistas, alguns micro-organismos presentes em hospitais se tornaram resistentes a drogas antimicrobianas, comumente usadas nesses ambientes. *P. aeruginosa* e outras bactérias gram-negativas semelhantes, por exemplo, se tornaram difíceis de serem controladas com antibióticos, devido à presença de fatores R, que transportam genes que determinam a resistência aos antibióticos (veja Capítulo 8, página 239). À medida que esses fatores R se recombinam, novos e múltiplos fatores de resistência são produzidos. Essas cepas bacterianas passam a fazer parte da microbiota dos pacientes internadas e dos profissionais trabalhando nos hospitais e ficam progressivamente mais resistentes à antibioticoterapia. Dessa maneira, as pessoas se tornam parte do reservatório (e da cadeia de transmissão) de cepas bacterianas resistentes a antibióticos. Normalmente, se a resistência do hospedeiro é alta, as novas cepas bacterianas não chegam a representar um problema. No entanto, se doenças, cirurgias ou traumas já enfraqueceram as defesas do hospedeiro, infecções secundárias passam a ser difíceis de tratar.

Hospedeiro comprometido

Um **hospedeiro comprometido** é aquele cuja resistência a infecções está reduzida por doença, terapia ou queimaduras. Duas condições importantes podem comprometer o hospedeiro: a ruptura da pele ou das membranas mucosas e um sistema imune suprimido.

Tabela 14.4 **Micro-organismos envolvidos na maioria das infecções nosocomiais**

Micro-organismo	Percentual de infecções totais	Percentual de resistência a antibióticos	Infecções causadas
Estafilococos coagulase-negativos	25%	89%	Causa mais comum de sepse
Staphylococcus aureus	16%	60%	Causa mais frequente de pneumonia
Enterococcus	10%	29%	Causa mais comum de infecções de feridas cirúrgicas
Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter e *Klebsiella pneumoniae*	23%	5 a 32%	Pneumonias e infecções de feridas cirúrgicas
Clostridium difficile	13%	Não documentado	Causa quase a metade de todas as diarreias nosocomiais
Fungos (principalmente *Candida albicans*)	6%	Não documentado	Infecções do trato urinário e sepse
Outras bactérias gram-negativas (*Acinetobacter, Citrobacter, Haemophilus*)	7%	Não documentado	Infecções do trato urinário e infecções de feridas cirúrgicas

Fonte: Dados do CDC; Vigilância Nacional de Infecções Nosocomiais dos Estados Unidos.

Enquanto a pele e as membranas mucosas estão intactas, fornecem uma barreira física formidável contra a maioria dos patógenos. Queimaduras, feridas cirúrgicas, traumas (como ferimentos acidentais), injeções, procedimentos diagnósticos invasivos, respiradores, terapia intravenosa e cateteres urinários (usados para drenar urina) são fatores que podem romper a primeira linha de defesa do organismo e tornar a pessoa mais suscetível a doenças em hospitais. Pacientes queimados são particularmente suscetíveis a infecções nosocomiais, pois sua pele não é mais uma barreira efetiva contra os micro-organismos.

O risco de infecções também está relacionado a outros procedimentos invasivos, como a administração de anestesia, que pode alterar a respiração e causar pneumonia, e a traqueotomia, na qual uma incisão é feita na traqueia para auxiliar a respiração. Pacientes que requerem procedimentos invasivos normalmente apresentam alguma doença mais grave, o que pode aumentar ainda mais a suscetibilidade a infecções. Aparelhos invasivos podem servir como uma via para a entrada de micro-organismos do ambiente no corpo; eles também ajudam a transferir micróbios de uma parte do corpo para outra. Os patógenos também podem se proliferar nos próprios aparelhos utilizados em procedimentos invasivos (veja a Figura 1.8, página 19).

Em indivíduos saudáveis, os leucócitos denominados células T (linfócitos T) promovem resistência a infecções matando diretamente os patógenos, mobilizando fagócitos e outros linfócitos e secretando substâncias químicas que matam os patógenos. Os leucócitos chamados de células B (linfócitos B), que se desenvolvem em células produtoras de anticorpos, também protegem contra infecções. Os anticorpos fornecem imunidade por ações como neutralização de toxinas, inibição da ligação de patógenos às células do hospedeiro e auxílio na lise de patógenos. Drogas, terapias radioativas, uso de esteroides, queimaduras, diabetes, leucemia, doenças renais, estresse e desnutrição são fatores que podem afetar adversamente a ação das células T e B e comprometer o hospedeiro. Além disso, o vírus da Aids destrói determinados tipos de células T.

Um resumo dos principais tipos de infecções nosocomiais é apresentado na **Tabela 14.5**.

Tabela 14.5 Principais tipos de infecções nosocomiais

Tipo de infecção	Comentário
Infecção do trato urinário	Bastante comum, normalmente correspondendo a 40% de todas as infecções nosocomiais. Tipicamente relacionada ao uso de cateteres urinários.
Infecção do trato respiratório inferior	Segundo tipo de infecção nosocomial mais frequente (cerca de 20%). Estima-se que 5 a 12% de todos os pacientes submetidos a cirurgias desenvolvam infecções pós-operatórias; o percentual pode chegar a 30% em determinadas cirurgias, como cirurgias de colo ou amputações.
Infecção de feridas cirúrgicas	Pneumonias nosocomiais ocorrem em aproximadamente 15% dos casos e apresentam altas taxas de mortalidade (13 a 55%). A maioria das pneumonias está relacionada ao uso de aparelhos respiratórios, que auxiliam a respiração ou administram medicamentos.
Infecção cutâneas	Representa cerca de 8% das infecções nosocomiais. Recém-nascidos apresentam alta suscetibilidade a infecções da pele e dos olhos.
Bacteremia, causada principalmente pelo uso de cateteres intravenosos	As bacteremias representam cerca de 6% das infecções nosocomiais. O uso de cateteres intravenosos está envolvido na geração de infecções nosocomiais da corrente sanguínea, particularmente infecções causadas por bactérias e fungos.
Outros	Todos os outros tipos, em conjunto, estão envolvidos em 11% das infecções nosocomiais.

Fonte: Dados do CDC; Vigilância Nacional de Infecções Nosocomiais dos Estados Unidos.

Cadeia de transmissão

Dada a variedade de patógenos (e patógenos em potencial) em hospitais e o estado comprometido do hospedeiro, as vias de transmissão passam a ser uma preocupação constante. As principais vias de transmissão das infecções nosocomiais são: (1) o contato direto dos profissionais da saúde com o paciente ou de um paciente com outro e, (2) o contato indireto através de fômites ou aos sistemas de ventilação do hospital (transmissão aérea).

Como a equipe hospitalar está em contato direto com os pacientes, frequentemente pode transmitir doenças. Um médico ou enfermeiro, por exemplo, pode transmitir micróbios para um paciente ao trocar um curativo, ou um funcionário da cozinha portador de *Salmonella* pode contaminar os alimentos oferecidos aos indivíduos internados.

Certas áreas de um hospital são reservadas para cuidados especializados; elas incluem unidades de queimados, hemodiálise, recuperação, terapia intensiva e oncologia. Infelizmente, essas unidades também agrupam os pacientes e fornecem ambientes propícios para a disseminação epidêmica de infecções nosocomiais de um paciente para outro.

Muitos procedimentos diagnósticos e terapêuticos em hospitais promovem a transmissão de infecções por fômites. O cateter urinário usado para a drenagem de urina da bexiga é um fômite em muitas infecções nosocomiais. Os cateteres intravenosos, que

atravessam a pele e alcançam as veias para administrar fluidos, nutrientes e medicamentos também podem transmitir infecções nosocomiais. Os aparelhos respiratórios podem introduzir fluidos contaminados nos pulmões. As agulhas podem introduzir patógenos em músculos ou no sangue, e bandagens cirúrgicas podem se tornar contaminadas e promover doenças (veja a página 422).

Controle das infecções nosocomiais

As medidas de controle para a prevenção de infecções nosocomiais variam de uma instituição para outra, mas, certos procedimentos em geral são implementados. É importante reduzir o número de patógenos a que os pacientes estão expostos, utilizando técnicas assépticas, manuseando os materiais contaminados com cuidado, promovendo a lavagem frequente e cuidadosa das mãos, educando os membros da equipe sobre as medidas básicas de controle de infecção e utilizando salas de isolamento.

De acordo com o CDC, lavar as mãos é o meio mais eficiente de prevenir a disseminação de infecções. Entretanto, a adesão dos profissionais da saúde aos procedimentos recomendados para a lavagem das mãos tem sido pequena. Em média, esses profissionais lavam as mãos apenas em 40% das vezes antes de interagir com os pacientes.

Além da lavagem das mãos, as banheiras usadas para lavar os pacientes devem ser desinfetadas entre os usos, de forma que as bactérias do paciente anterior não contaminem o seguinte. Respiradores e umidificadores fornecem um ambiente apropriado ao crescimento de algumas bactérias e um meio para sua transmissão aérea. Essas fontes de infecções nosocomiais devem ser mantidas em condições extremamente limpas e desinfetadas, e os materiais usados em curativos e intubações (inserção de tubos em órgãos como a traqueia) devem ser descartados após o uso ou esterilizados antes do uso. As embalagens usadas para manter as condições de esterilidade devem ser removidas assepticamente. Os médicos podem ajudar a melhorar a resistência dos pacientes às infecções prescrevendo antibióticos somente quando necessário, evitando procedimentos invasivos sempre que possível e minimizando o uso de drogas imunossupressoras.

Hospitais renomados devem ter uma comissão de controle de infecções. A maioria dos hospitais possui pelo menos um enfermeiro ou epidemiologista (profissional que estuda doenças em uma população) especializado no controle de infecções hospitalares. O papel desses profissionais é identificar as fontes de problemas, como cepas de bactérias resistentes a antibióticos e técnicas inapropriadas de esterilização. Eles devem realizar exames periódicos dos equipamentos hospitalares e determinar a extensão das contaminações microbianas. Amostras de tubos, cateteres, reservatórios de respiradores e de outros equipamentos devem ser coletadas e analisadas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que fatores interagem para que uma infecção nosocomial ocorra? **14-15**

✓ O que é um hospedeiro comprometido? **14-16**

✓ Como as infecções nosocomiais são transmitidas e como podem ser prevenidas? **14-17, 14-18**

Doenças infecciosas emergentes

OBJETIVO DO APRENDIZADO

14-19 Listar diversas razões prováveis para o surgimento de doenças infecciosas e citar um exemplo para cada razão.

Como observado no Capítulo 1, as **doenças infecciosas emergentes** (**EIDs**, de *emerging infectious diseases*) são aquelas literalmente novas ou que estão sofrendo um processo de mudança, com aumento de incidência em um passado recente ou potencial aumento em um futuro próximo. Uma doença emergente pode ser causada por um vírus, uma bactéria, um fungo, um protozoário ou um helminto. Diversos critérios são utilizados para a identificação de uma EID. Por exemplo, algumas doenças apresentam sintomas que são claramente distintos de qualquer outra doença. Algumas são reconhecidas em razão da melhora dos métodos de diagnóstico, o que permite a identificação de um novo patógeno. Outras são identificadas quando uma doença local se torna amplamente difundida, uma doença rara se torna comum, uma doença leve se torna mais grave, ou o aumento na expectativa de vida dos hospedeiros permite que doenças de curso lento se manifestem. Exemplos de doenças infecciosas emergentes são listados na **Tabela 14.6** e descritos nos Quadros dos Capítulos 8 e 13 (páginas 223 e 370).

Uma série de fatores contribui para o surgimento de uma nova doença infecciosa:

- Novas cepas, como a *E. coli* O157:H7 e as influenzas aviária e suína, podem resultar da recombinação genética entre micro-organismos.
- Um novo sorovar, como o *Vibrio cholerae* O139, pode resultar de mudanças em um micro-organismo existente ou em sua evolução.
- O uso indiscriminado de antibióticos e pesticidas estimula o crescimento de populações de micróbios resistentes, assim como de insetos (mosquitos e piolhos) e carrapatos que os carregam.
- O aquecimento global e as mudanças nos padrões climáticos podem aumentar a distribuição e a sobrevivência de reservatórios e vetores, resultando no surgimento e na disseminação de doenças como a malária e a síndrome pulmonar por Hantavírus.
- Doenças conhecidas, como a cólera e a febre do Oeste do Nilo, podem se disseminar para novas áreas geográficas pelos meios de transporte modernos. Essa possibilidade era menor há 100 anos, quando as viagens duravam tanto tempo que os viajantes infectados morriam ou se recuperavam antes do fim do percurso.
- As infecções previamente desconhecidas podem surgir em indivíduos vivendo ou trabalhando em uma região que esteja sofrendo mudanças ecológicas produzidas por eventos como desastres naturais, construções, guerras e expansão das áreas habitadas. Na Califórnia, por exemplo, a incidência de coccidioidomicoses aumentou dez vezes após o terremoto de Northridge, em 1994. Atualmente, cortadores de árvores das florestas da América do Sul estão contraindo a febre hemorrágica venezuelana.

Tabela 14.6 Doenças infecciosas emergentes

Micro-organismo	Ano de emergência	Doença causada	Capítulo de referência
Bactérias			
Bacillus anthracis	2001	Antraz	23
Bordetella pertussis	2000	Coqueluche	24
Meticilina-resistente *Staphylococcus aureus*	1997	Bacteremia, pneumonia	20
Staphylococcus aureus vancomicina- resistente	1996	Bacteremia, pneumonia	20
Streptococcus pneumoniae	1995	Pneumonia resistente a antibióticos	24
Streptococcus pyogenes	1995	Síndrome do choque tóxico estreptocócico	21
Corynebacterium diphtheriae	1994	Difteria epidêmica, leste da Europa	24
Vibrio cholerae O139	1992	Novo sorovar de cólera, Ásia	25
Enterococos vancomicina-resistentes	1988	Infecções do trato urinário, bacteremia, endocardites	26
Bartonella henselae	1983	Doença da arranhadura do gato	23
Escherichia coli O157:H7	1982	Diarreia hemorrágica	25
Legionella pneumophila	1976	Legionelose (doença do Legionário)	24
Borrelia burgdorferi	1975	Doença de Lyme	23
Fungos			
Coccidioides immitis	1993	Coccidioidomicose	24
Pneumocystis jirovecii	1981	Pneumonia em pacientes imunocomprometidos	24
Protozoários			
Trypanosoma cruzi	2007	Doença de Chagas nos Estados Unidos	23
Cyclospora cayetanensis	1993	Diarreia severa	25
Cryptosporidium spp.	1976	Criptosporidiose	25
Helmintos			
Baylisascaris procyonis	2001	Neurorretinite subaguda difusa unilateral	
Vírus			
Coronavírus associado ao SARS	2002	Síndrome respiratória aguda severa	24
Vírus Ebola	2002,1995,1975	Febre hemorrágica	23
Vírus do Oeste do Nilo	1999	Febre do Oeste do Nilo, encefalite do Oeste do Nilo	22
Vírus Nipah	1998	Encefalite, Malásia	22
Vírus da influenza aviária A (H5N1)	1997	Influenza aviária	24
Vírus Hendra	1994	Sintomas semelhantes a encefalites, Austrália	24
Hantavírus	1993	Síndrome Pulmonar por hantavírus	23
Febre hemorrágica venezuelana	1991	Febre hemorrágica, América do Sul	23
Vírus da hepatite E	1990	Hepatite	25
Vírus da hepatite C	1989	Hepatite	25
Vírus da dengue	1984	Febre da dengue e febre hemorrágica da dengue, Américas do Sul e central e Caribe	23
HIV	1983	Aids	19
Prions			
Agente da encefalopatia espongiforme bovina	1996	Doença da vaca louca, Grã-Bretanha	22

- Até mesmo medidas de controle animal podem afetar a incidência de doenças. O aumento na ocorrência da doença de Lyme nos últimos anos pode ter origem no aumento das populações de cervos, o que por sua vez é resultado da diminuição do número de seus predadores pela caça e destruição de habitats.
- As falhas em medidas de saúde pública podem estar contribuindo para o surgimento de infecções previamente controladas. A falha na administração de vacinas de reforço em adultos, por exemplo, levou a uma epidemia de difteria nas repúblicas independentes da antiga União Soviética, na década de 1990.

O CDC, os Centros Nacionais de Saúde (NIH, de *National Institutes of Health*) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) desenvolveram planos relativos às doenças infecciosas emergentes. Suas prioridades incluem as seguintes ações:

1. Detectar, investigar imediatamente e monitorar os patógenos infecciosos emergentes, as doenças que eles causam e os fatores que influenciam seu surgimento.
2. Expandir pesquisas básicas e aplicadas relativas a fatores ecológicos e ambientais, mudanças e adaptações microbianas e interações com hospedeiro que possam influenciar as EIDs.
3. Reforçar a comunicação de informações de saúde pública e iniciar a implementação de estratégias de prevenção relativas às EIDs.
4. Estabelecer planos para monitorar e controlar as EIDs em todo o mundo.

A importância das doenças infecciosas emergentes para a comunidade científica resultou na publicação de uma nova revista científica especializada, denominada *Emerging Infectious Diseases**, voltada exclusivamente à publicação de matérias relativas ao tópico. Ela foi publicada pela primeira vez em janeiro de 1995.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Forneça vários exemplos de doenças infecciosas emergentes. **14-19**

Epidemiologia

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

14-20 Definir epidemiologia e descrever três tipos de investigações epidemiológicas.

14-21 Identificar a função do Centro de Controle e Prevenção de Doenças.

14-22 Definir os seguintes termos: morbidade, mortalidade e notificação de doenças infecciosas.

No mundo atual, superpopuloso e com regiões de alta densidade demográfica, em que as viagens frequentes e a produção e distribuição em massa de alimentos e outros produtos fazem parte do cotidiano, doenças podem se disseminar rapidamente. Uma fonte de água ou alimentos contaminados, por exemplo, pode afetar muitos milhares de pessoas de forma rápida. A identificação do agente causador de uma doença é necessária, o que permite seu tratamento e controle. Também é importante compreender o modo de transmissão e distribuição geográfica da doença. A ciência que estuda quando e onde as doenças ocorrem e como elas são transmitidas nas populações é chamada de **epidemiologia**.

A epidemiologia moderna começou em meados do século XIX com três investigações, hoje famosas. John Snow, um médico inglês, conduziu uma série de investigações relacionadas a surtos de cólera em Londres. À medida que a epidemia de cólera de 1848 a 1849 seguia descontrolada, Snow analisou os registros de óbitos atribuídos à cólera, coletando informações sobre as vítimas e entrevistando os sobreviventes que viviam nos bairros afetados. Usando toda a informação que compilou, Snow preparou um mapa mostrando que a maioria dos indivíduos que morreram de cólera beberam ou utilizaram água proveniente de uma bomba localizada na rua Broad; aqueles que usaram água de outras bombas (ou beberam cerveja, como os funcionários de uma cervejaria próxima) não contraíram a doença. Ele concluiu que a água contaminada da rua Broad era a fonte da epidemia. Quando a bomba foi desativada e as pessoas não tiveram mais acesso à água dessa localidade, o número de casos de cólera diminuiu significativamente.

Entre 1846 e 1848, Ignaz Semmelweis registrou meticulosamente o número de nascimentos e os casos de morte materna no Hospital Geral de Viena. A Primeira Clínica Obstétrica havia se tornado motivo de comentários por toda Viena em razão da taxa de mortes devido à sepse puerperal, que afetava 13 a 18% das mães, quatro vezes mais que a Segunda Clínica Obstétrica. A sepse puerperal (febre do parto) é uma doença nosocomial que inicia no útero como resultado do parto ou aborto e é frequentemente causada por *Staphylococcus pyogenes*. A infecção se espalha pela cavidade abdominal (peritonite) e em muitos casos se transforma em septicemia (proliferação de micróbios no sangue). Mulheres ricas não iam à clínica, e mulheres pobres achavam que teriam melhor chance de sobrevivência se fizessem o parto em outro lugar antes de irem ao hospital. Observando os dados, Semmelweis identificou um fator comum entre as mulheres ricas e pobres que haviam dado a luz antes de irem à clínica: elas não eram examinadas por estudantes de medicina, que passavam as manhãs dissecando cadáveres. Em maio de 1847, ele ordenou que todos os estudantes de medicina lavassem as mãos com hipoclorito de cálcio antes de entrarem na sala de parto. A partir dessa iniciativa, a taxa de mortalidade diminuiu para menos de 2%.

Florence Nightingale registrou as estatísticas de tifo epidêmico entre as populações inglesas de civis e militares. Em 1858, ela publicou um relatório de mais de mil páginas usando comparações estatísticas para demonstrar que doenças, alimentação inapropriada e condições sanitárias ruins estavam matando os soldados. Seu trabalho resultou em reformas no Exército Britânico e em sua admissão na Sociedade de Estatística, sendo a primeira mulher a fazer parte da instituição.

Essas três análises cuidadosas de quando e onde uma doença ocorre e como é transmitida dentro de uma população constituíram uma nova abordagem à pesquisa médica e demonstraram a importância da epidemiologia. Os trabalhos de Snow, Semmelweis e Nightingale resultaram em mudanças que diminuíram a incidência de doenças, embora o conhecimento sobre as causas das doenças infecciosas fosse limitado. A maioria dos médicos acreditava que os sintomas que observavam eram a causa da doença, e não seu resultado. O trabalho de Koch e a teoria dos germes para explicar a origem das doenças demorariam ainda 30 anos para acontecer.

Um epidemiologista não apenas determina a etiologia de uma doença, mas também identifica outros fatores possivelmente importantes e padrões associados às pessoas afetadas. Uma parte essencial do trabalho do epidemiologista consiste na preparação e análise de

dados como idade, sexo, ocupação, hábitos pessoais, nível socioeconômico, histórico de imunizações, presença de outras doenças, história comum de indivíduos afetados (como comer o mesmo alimento ou visitar o mesmo consultório médico), etc. Também é importante para a prevenção de surtos futuros o conhecimento do o local onde um hospedeiro suscetível entrou em contato com o agente infeccioso. Além disso, o epidemiologista considera o período de ocorrência da doença, seja este de forma sazonal (para indicar se a doença é prevalente durante o verão ou o inverno) ou de forma anual (para indicar os efeitos da imunização ou uma doença emergente ou re-emergente).

Um epidemiologista também se preocupa com os vários métodos de controle de uma doença. As estratégias para controlá-las incluem o uso de drogas (quimioterapia) e vacinas (imunização). Outros métodos incluem controle de reservatórios humanos, animais ou inanimados, tratamento de água, escoamento apropriado de esgotos (no caso de doenças entéricas), acondicionamento frio, pasteurização, inspeção de alimentos, cozimento adequado (no caso de doenças transmitidas por alimentos), nutrição adequada para favorecer o fortalecimento das defesas do hospedeiro, mudanças nos hábitos pessoais e triagem de sangue para transfusões e de órgãos para transplantes.

A **Figura 14.10** apresenta gráficos que indicam a incidência de determinadas doenças. Esses gráficos fornecem informações que indicam se a doença é esporádica ou epidêmica e, no caso de ser epidêmica, como pode ter se disseminado. Estabelecendo a frequência de uma doença em uma população e identificando os fatores responsáveis por sua transmissão, o epidemiologista pode fornecer aos médicos informações importantes para determinar o prognóstico e o tratamento de uma doença. Os epidemiologistas também podem avaliar se uma doença está sendo efetivamente controlada em uma comunidade – por um programa de vacinação, por exemplo. Finalmente, os epidemiologistas podem fornecer dados que auxiliam a avaliação e o planejamento de ações de cuidados de saúde em uma comunidade.

Os epidemiologistas usam três tipos básicos de investigação ao analisar a ocorrência de uma doença: descritiva, analítica e experimental.

(a) Casos de doença de Lyme, 1992-2007

(b) Doença de Lyme por mês, 2007

(c) Casos registrados de tuberculose, 1948-2007

Figura 14.10 Gráficos epidemiológicos. (a) Casos de doença de Lyme, mostrando a ocorrência anual da doença durante o período analisado. **(b)** Uma perspectiva diferente da doença de Lyme, que permite aos epidemiologistas tirar algumas conclusões iniciais sobre a doença. Esse gráfico registra o número de casos por 100.00 habitantes em vez do número total de casos. **(c)** Esse gráfico da incidência de tuberculose mostra o rápido decréscimo da taxa de infecção de 1948 a 1957.
Fonte: Dados do CDC.

P O que o gráfico (b) indica em relação à transmissão da doença da Lyme? O que você pode concluir a partir do gráfico (c)?

Epidemiologia descritiva

A **epidemiologia descritiva** envolve a coleta de todos os dados que descrevem a ocorrência de uma doença em estudo. Informações relevantes normalmente incluem dados sobre os indivíduos afetados, assim como o local e o período no qual a doença ocorreu. A pesquisa de Snow sobre a causa da epidemia de cólera em Londres é um exemplo de epidemiologia descritiva.

Esses estudos normalmente são *retrospectivos* (analisando o período pregresso, depois que o episódio já se encerrou). Em outras palavras, o epidemiologista busca no passado a causa e a origem da doença (veja os quadros nos Capítulos 21 a 26). A busca da causa da síndrome do choque tóxico é um exemplo de um estudo retrospectivo relativamente recente. Na fase inicial de um estudo epidemiológico, análises retrospectivas são mais comuns que análises *prospectivas* (que analisam o período futuro), em que o epidemiologista escolhe estudar um grupo de pessoas que estão livres de uma determinada doença. Doenças subsequentes que surjam no grupo são então registradas por um dado período. Estudos prospectivos foram usados para os testes da vacina Salk, contra pólio, em 1954 e 1955.

Epidemiologia analítica

A **epidemiologia analítica** estuda uma doença em particular para determinar sua causa mais provável. Esse estudo pode ser feito de duas formas. No *método de caso controle*, o epidemiologista procura por fatores que possam ter precedido a doença. Um grupo de

pessoas que têm a doença é comparado a um grupo de pessoas livres da doença. Por exemplo, um grupo com meningite e um sem a doença são pareados por sexo, idade, condição socioeconômica e localização. As estatísticas são comparadas para determinar quais dos possíveis fatores – genéticos, ambientais, nutricionais e assim por diante – podem ser responsáveis pela meningite.

O trabalho de Nightingale é um exemplo de epidemiologia analítica, no qual ela comparou a doença em soldados e civis. Pelo *método de coortes*, o epidemiologista estuda duas populações: uma que teve contato com o agente causador da doença e outra que não teve contato (ambos os grupos são chamados de coorte). Por exemplo, a comparação de um grupo composto por pessoas que receberam transfusões sanguíneas e outro de pessoas que não receberam pode revelar uma associação entre a transfusão de sangue e a incidência de hepatite B.

Epidemiologia experimental

A **epidemiologia experimental** inicia com uma hipótese sobre uma determinada doença; experimentos para testar a hipótese são então conduzidos com um grupo de pessoas. Uma dessas hipóteses poderia ser a eficiência atribuída a uma droga. Um grupo de pessoas infectadas é selecionado e dividido aleatoriamente, de forma que algumas pessoas recebam a droga e outras recebam um placebo, uma substância que não tem efeito. Se todos os fatores forem constantes para os dois grupos, e se as pessoas que receberam a droga se recuperarem mais rapidamente que aquelas que receberam o placebo, pode-se concluir que a droga foi o fator experimental (variável) responsável pela diferença entre os grupos.

Notificação de casos

Observamos anteriormente neste capítulo que o estabelecimento da cadeia de transmissão é muito importante. Uma vez conhecida, a cadeia pode ser interrompida para diminuir ou interromper a disseminação da doença.

Um método efetivo de estabelecer a cadeia de transmissão é a *notificação de casos*, um procedimento que requer que os trabalhadores de saúde relatem a ocorrência de doenças específicas às autoridades de saúde locais, estaduais ou federais. Exemplos dessas doenças incluem a Aids, o sarampo, a gonorreia, o tétano e a febre tifoide. A notificação de casos fornece aos epidemiologistas uma ideia aproximada da incidência e prevalência de uma doença. Essa informação ajuda as autoridades a decidir se é pertinente ou não investigar uma determinada doença.

A notificação de casos forneceu aos epidemiologistas dados valiosos sobre a origem e a disseminação da Aids. De fato, uma das primeiras indicações sobre a Aids veio de relatos de homens jovens que apresentavam sarcoma de Kaposi, patologia conhecida anteriormente como uma doença de homens mais velhos. Utilizando esses relatos, os epidemiologistas começaram vários estudos com pacientes. Se um estudo epidemiológico mostra que um segmento grande o suficiente de uma população é afetado por uma doença, é feita uma tentativa de isolar seu agente causador. A identificação é realizada por vários métodos microbiológicos diferentes e, uma vez concluída com sucesso, fornece informações valiosas sobre os reservatórios da doença.

Uma vez que a cadeia de transmissão é descoberta, é possível aplicar medidas de controle para interromper a disseminação da doença. Essas ações podem incluir a eliminação da fonte de infecção, o isolamento e a segregação de pessoas infectadas, o desenvolvimento de vacinas e, no caso da Aids, a educação da população.

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC)

A epidemiologia é uma preocupação dos departamentos de saúde federais e estaduais norte-americanos. O **Centro de Controle e Prevenção de Doenças** (**CDC**), um ramo do Serviço de Saúde Pública americano, localizado em Atlanta, Geórgia, é uma fonte central de informação epidemiológica nos Estados Unidos.

O CDC publica um periódico denominado **Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade** (**MMWR**, de *Morbidity and Mortality Weekly Report*). O MMWR é lido por microbiologistas, médicos e outros profissionais da área da saúde. O MMWR contém dados sobre **morbidade**, a incidência de doenças de notificação específicas, e a **mortalidade**, o número de mortes causadas por estas doenças. Esses dados geralmente são organizados por estado. As **doenças infecciosas de notificação obrigatória**, mostradas na Tabela 14.7, são aquelas cuja ocorrência os médicos são obrigados por lei a relatar ao Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos. Até 2008, um total de 63 doenças infecciosas foi notificado em nível nacional. A **taxa de morbidade** é o número de pessoas afetadas por uma doença, em um dado período, em relação à população total. A **taxa de mortalidade** é o número de mortes causadas por uma doença em uma população, em um dado período, em relação à população total.

Os artigos publicados pelo MMWR incluem relatos de surtos de doenças, casos e históricos de interesse especial e resumos da situação atual de determinadas doenças em períodos recentes. Esses artigos frequentemente incluem recomendações para procedimentos de diagnóstico, imunização e tratamento. Diversos gráficos e outros dados presentes neste livro foram retirados do MMWR, e os relatos de casos nos quadros foram adaptados de relatos obtidos destas publicações. Veja o quadro na página 422 como exemplo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Após descobrir que 40 funcionários de um hospital apresentaram náuseas e vômito, o responsável pelo controle de infecções hospitalares observou que 39 pessoas doentes comeram vagens no restaurante do hospital, comparados a 34 outras pessoas que também comeram no mesmo local, porém não ingeriram vagens. Que tipo de epidemiologia é esta? **14-20**

✔ Qual é a função do CDC? **14-21**

✔ Em 2003, a morbidade da síndrome hemolítico-urêmica foi de 176, e a mortalidade foi de 29. A morbidade de listeriose no mesmo período foi de 696 e a mortalidade de 23. Qual doença apresenta maior probabilidade de ser fatal? **14-22**

* * *

No próximo capítulo, consideraremos os mecanismos de patogenicidade. Discutiremos em mais detalhe os métodos utilizados pelos micro-organismos para penetrar no corpo e causar doença, os efeitos da doença no organismo e os meios pelos quais os patógenos deixam o corpo.

Tabela 14.7	Doenças infecciosas de notificação nos Estados Unidos, 2008
Síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids)	Peste bubônica
Antraz	Poliomielite
Doenças arbovirais	Psitacose
Botulismo	Febre Q
Brucelose	Raiva animal
Cancroide	Raiva humana
Infecção genital por *Chlamydia trachomatis*	Febre maculosa das Montanhas Rochosas
Cólera	Rubéola
Coccidioidomicose	Síndrome congênita da rubéola
Criptosporidiose	Salmonelose
Ciclosporíase	Síndrome respiratória aguda severa associada a coronavírus (SARS-CoV)
Difteria	*E. coli* produtora de toxina Shiga
Erliquiose/anaplasmose	Shigelose
Giardíase	Varíola
Gonorreia	Doença estreptocócica, invasiva, grupo A
Haemophilus influenzae, invasiva	Síndrome do choque tóxico estreptocócico
Doença de Hansen (lepra)	*Streptococcus pneumoniae* resistente a drogas
Síndrome pulmonar por hantavírus	*S. pneumoniae*, invasiva, em crianças
Síndrome hemolítico-urêmica, pós-diarreia	Sífilis
Hepatite A	Sífilis congênita
Hepatite B	Tétano
Hepatite C	Síndrome do choque tóxico (não estreptocócico)
Infecção por HIV	Triquinelose
Mortalidade infantil associada à gripe (*Influenza*)	Tuberculose
Legionelose	Tularemia
Listeriose	Febre tifoide
Doença de Lyme	*Staphylococcus aureus* intermediário-resistente a vancomicina (VISA)
Malária	*Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA)
Sarampo	Varicela
Doença meningocócica	Vibriose
Caxumba	Febre amarela
Coqueluche	

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Infecções nosocomiais

Neste quadro, você encontrará uma série de questões que os epidemiologistas se perguntam quando tentam descobrir a fonte de um surto. Tente responder cada questão antes de passar à seguinte.

1. Durante um ano, 5.287 pacientes desenvolveram bacteremia durante sua estadia em hospitais. Todos os pacientes apresentaram febre (>38°C), calafrios e baixa pressão sanguínea; 14% apresentaram fasciite necrosante severa (veja a página 591). Culturas de sangue foram crescidas em meio sólido hipertônico-manitol, e a bactéria isolada foi identificada como sendo coagulase-positiva, constituída de cocos gram-positivos (Figura A).

   Quais organismos são os possíveis agentes da infecção?

2. A bactéria *Staphylococcus aureus* foi identificada por testes bioquímicos. Testes de sensibilidade a antibióticos mostraram que todos os isolados eram meticilina-resistentes, seis eram vancomicina-intermediários-resistentes e um era vancomicina-resistente. *S. aureus* meticilina-resistentes (MRSA) podem causar uma doença necrosante, que traz risco à vida, devido à produção da toxina leucocidina (veja a página 436).

   O que mais você precisa saber?

3. A reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) foi utilizada para determinar que a amostra USA100 causou 80% dos casos de MRSA neste relatório. A amostra USA100 é a causa de 92% das infecções hospitalares. A maioria das infecções por MRSA adquiridas na comunidade em geral é causada pela cepa USA300. A incidência de MRSA na comunidade em geral (não hospitalizada) é de 0,02% a 0,04%.

   Com base nas informações da tabela, quais procedimentos apresentam maior probabilidade de infecção?

4. A cada ano, estima-se que 250.000 casos de infecções sanguíneas ocorram em hospitais nos Estados Unidos em função da inserção de agulhas em veias para administração de soluções intravenosas (IV), e a taxa de mortalidade destas infecções é de 12 a 25%. Pessoas em hemodiálise são particularmente vulneráveis a estas infecções, pois necessitam que as agulhas permaneçam em suas veias por períodos prolongados e sofrem múltiplas e frequentes perfurações (Figura B). Além disso, pacientes colonizados por MRSA podem servir como reservatórios para a transmissão do patógeno em ambientes hospitalares. O fator de risco primário para as infecções bacterianas entre pacientes em diálise é o acesso frequente às suas veias. O risco é maior para cateteres e menor para enxertos venosos diretos.

   Como a terapia antimicrobiana contribui para o quadro?

5. A terapia antimicrobiana para infecções associadas à hemodiálise aumenta a prevalência de resistência antimicrobiana. Bactérias suscetíveis são eliminadas e bactérias que apresentam mutações que conferem resistência podem crescer sem competição. Cepas de MRSA originadas em ambientes hospitalares, como USA100, são tipicamente resistentes a diversos antibióticos.

Figura B Procedimento de hemodiálise.

Fonte: adaptado de *MMWR* 56(9):197-199, 9 de março, 2007.

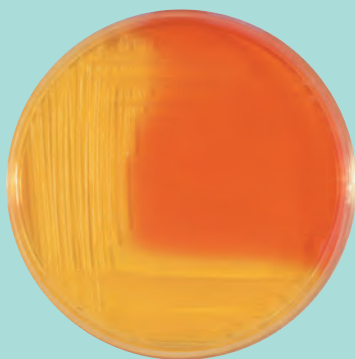



Figura A Cocos gram-positivos crescidos em meio hipertônico-manitol.

Procedimento	Pacientes infectados por MRSA	Número total de pacientes que receberam algum tipo de procedimento
Hemodiálise	813	1.807
Cateter intravenoso (IV)	1.057	16.516
Cirurgia	945	5.659
Cateter urinário	1.750	7.919
Ventilador (respirador artificial invasivo)	722	7.367
Uso de antibióticos durante os seis meses que precederam a infecção		
Vancomicina	21	41
Fluoroquinolona	49	113
Ceftriaxona	14	41

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 399)

1. Os micro-organismos que causam doenças são chamados de patógenos.
2. Os micro-organismos patogênicos possuem propriedades especiais que permitem que eles invadam o corpo humano e produzam toxinas.
3. Quando um micro-organismo supera as defesas do hospedeiro, um estado de doença se desenvolve.

Patologia, infecção e doença (p. 400)

1. A patologia é o estudo científico de uma doença.
2. A patologia abrange a etiologia (causa), a patogênese (desenvolvimento) e os efeitos de uma doença.
3. Infecção é a invasão e o crescimento de patógenos no organismo.
4. O hospedeiro é um organismo que abriga e dá suporte ao crescimento de patógenos.
5. Doença é um estado anormal no qual parte ou todo o organismo não se encontra apropriadamente ajustado ou é incapaz de realizar suas funções normais.

Microbiota normal (p. 400-404)

1. Os animais, inclusive os seres humanos, geralmente são livres de micro-organismos quando no útero materno.
2. Os micro-organismos começam a colonizar as superfícies internas e externas do corpo logo após o nascimento.
3. Os micro-organismos que estabelecem colônias permanentes dentro ou sobre o corpo, sem causar doença, constituem a microbiota normal.
4. A microbiota transitória é formada por micróbios que estão presentes em diversos momentos e então desaparecem.

Relações entre a microbiota normal e o hospedeiro (p. 401-403)

5. A microbiota normal pode impedir a infecção por patógenos; esse fenômeno é conhecido como antagonismo microbiano.
6. A microbiota normal e o hospedeiro coexistem em simbiose (vivem juntos).
7. Os três tipos de simbiose são comensalismo (um organismo se beneficia e o outro não é afetado), mutualismo (ambos os organismos se beneficiam) e parasitismo (um organismo se beneficia e o outro é prejudicado).

Micro-organismos oportunistas (p. 403, 404)

8. Os patógenos oportunistas não causam doenças em condições normais, porém geram doença sob condições especiais.

Cooperação entre micro-organismos (p. 404)

9. Em algumas situações, um micro-organismo possibilita que outro cause uma doença ou produza sintomas mais graves.

Etiologia das doenças infecciosas (p. 404-406)

Postulados de Koch (p. 404)

1. Os postulados de Koch são critérios que estabelecem que micróbios específicos causam doenças específicas.
2. Os postulados de Koch possuem os seguintes requerimentos: (1) o mesmo patógeno deve estar presente em todos os casos da doença; (2) o patógeno deve ser isolado em cultura pura; (3) o patógeno isolado de uma cultura pura deve causar a mesma doença em um animal de laboratório suscetível e saudável; (4) o patógeno deve ser reisolado a partir do animal de laboratório inoculado.

Exceções aos postulados de Koch (p. 404-406)

3. Os postulados de Koch são modificados para estabelecer etiologias de doenças causadas por vírus e algumas bactérias que não crescem em meios artificiais.
4. Algumas doenças, como o tétano, possuem sinais e sintomas inequívocos.
5. Algumas doenças, como pneumonia e nefrite, podem ser causadas por uma variedade de micro-organismos.
6. Alguns patógenos, como o *S. pyogenes*, podem causar diversas doenças diferentes.
7. Certos patógenos, como o HIV, causam doença apenas em humanos.

Classificação das doenças infecciosas (p. 406, 407)

1. Um paciente pode exibir sintomas (mudanças subjetivas nas funções corporais) e sinais (mudanças mensuráveis) que são usados pelo médico para a realização do diagnóstico (identificação da doença).
2. Um grupo específico de sintomas e sinais que sempre acompanham uma doença específica é chamado de síndrome.
3. As doenças comunicáveis são transmitidas direta ou indiretamente de um hospedeiro a outro.
4. Uma doença contagiosa é aquela que se dissemina facilmente de uma pessoa para outra.
5. As doenças não comunicáveis são causadas por micro-organismos que normalmente crescem na superfície do corpo humano e não são transmitidos de um hospedeiro para outro.

Ocorrência de uma doença (p. 406)

6. A ocorrência de uma doença é relatada por sua incidência (número de pessoas que contraem a doença) e prevalência (número de casos em um período em particular).
7. As doenças são classificadas pela frequência de ocorrência: esporádicas, endêmicas, epidêmicas ou pandêmicas.

Gravidade e duração de uma doença (p. 406, 407)

8. O escopo de uma doença pode ser definido como agudo, crônico, subagudo ou latente.
9. A imunidade grupal é a presença de imunidade contra uma doença na maioria da população.

Extensão do envolvimento do hospedeiro (p. 407)

10. Uma infecção local afeta uma pequena área do corpo; uma infecção sistêmica se dissemina por todo o corpo através do sistema circulatório.
11. Uma infecção primária é uma infecção aguda que causa a doença inicial.
12. Uma infecção secundária pode ocorrer depois que o hospedeiro foi enfraquecido pela infecção primária.
13. Uma infecção inaparente, ou subclínica, não causa qualquer sinal de doença no hospedeiro.

Padrões de doença (p. 407-409)

Fatores predisponentes (p. 408)

1. Um fator predisponente é aquele que torna o organismo mais suscetível a uma doença ou altera seu curso.
2. Exemplos incluem idade, sexo, clima, fadiga e nutrição inadequada.

Desenvolvimento da doença (p. 408-409)

3. O período de incubação é o intervalo entre a infecção inicial e o surgimento dos primeiros sinais e sintomas.
4. O período prodrômico é caracterizado pelo aparecimento dos primeiros sinais e sintomas, normalmente leves e sutis.
5. Durante o período de doença, os sinais e sintomas são aparentes.
6. Durante o período de declínio, os sinais e sintomas diminuem de intensidade.
7. Durante o período de convalescência, o organismo retorna ao seu estado anterior à doença e a saúde é restaurada.

Disseminação da infecção (p. 409-413)

Reservatórios de infecção (p. 409)

1. Uma fonte contínua de infecção é chamada de reservatório.
2. Pessoas que têm uma doença ou são portadoras de micro-organismos patogênicos são reservatórios humanos da infecção.
3. As zoonoses são doenças que afetam os animais selvagens ou domésticos e podem ser transmitidas aos seres humanos.
4. Alguns micro-organismos patogênicos crescem em reservatórios inanimados, como o solo ou a água.

Transmissão de doenças (p. 409-413)

5. A transmissão por contato direto envolve o contato físico entre a fonte da doença e o hospedeiro suscetível.
6. A transmissão por fômites (objetos inanimados) constitui um contato indireto.
7. A transmissão via saliva ou muco, oriundos de tosse ou espirro, é chamada de transmissão por gotículas.
8. A transmissão por um meio como água, alimentos ou ar é chamada de transmissão por veículo.
9. Transmissões aéreas se referem a patógenos transportados em gotículas de água ou poeira a distâncias maiores que 1 metro.
10. Vetores artrópodes transportam os patógenos de um hospedeiro a outro por transmissão mecânica ou biológica.

Infecções nosocomiais (adquiridas em hospitais) (p. 413-416)

1. Uma infecção nosocomial é qualquer infecção adquirida durante o curso de internação em um hospital, enfermaria ou outro estabelecimento para tratamento de saúde.
2. Cerca de 5 a 15% de todos os pacientes hospitalizados adquirem alguma infecção nosocomial.

Micro-organismos no hospital (p. 413, 414)

3. Certos micro-organismos da microbiota normal frequentemente são responsáveis por infecções nosocomiais quando são introduzidos no organismo por algum procedimento médico como cirurgia ou cateterismo.
4. Bactérias gram-negativas oportunistas, resistentes a drogas, são as causas mais frequentes de infecções nosocomiais.

Hospedeiro comprometido (p. 414, 415)

5. Pacientes com queimaduras, feridas cirúrgicas e sistema imune suprimido são os mais suscetíveis a infecções nosocomiais.

Cadeia de transmissão (p. 415, 416)

6. As infecções nosocomiais são transmitidas por contato direto entre os membros da equipe hospitalar e os pacientes, assim como entre pacientes.
7. Fômites como cateteres, seringas e aparelhos respiratórios podem transmitir infecções nosocomiais.

Controle das infecções nosocomiais (p. 416)

8. Técnicas assépticas podem prevenir as infecções nosocomiais.
9. Os membros da equipe de controle de infecções hospitalares são responsáveis pela verificação da limpeza, da estocagem e do manuseio apropriados de equipamentos e suprimentos.

Doenças infecciosas emergentes (p. 416-418)

1. Novas doenças e doenças com incidências crescentes são chamadas de doenças infecciosas emergentes (EIDs).
2. As EIDs podem resultar do uso de antibióticos e pesticidas, mudanças climáticas, viagens, falta de vacinações e melhoria nos sistemas de notificação.
3. Os órgãos CDC, NIH e OMS são responsáveis pela vigilância e resposta ao surgimento de doenças infecciosas.

Epidemiologia (p. 418-422)

1. A ciência da epidemiologia é o estudo da transmissão, da incidência e da frequência de uma doença.
2. A epidemiologia moderna iniciou em meados do século XIX, com os trabalhos de Snow, Semmelweis e Nightingale.
3. Na epidemiologia descritiva, dados sobre pessoas infectadas são coletados e analisados.
4. Na epidemiologia analítica, um grupo de pessoas infectadas é comparado com um grupo de pessoas não infectadas.

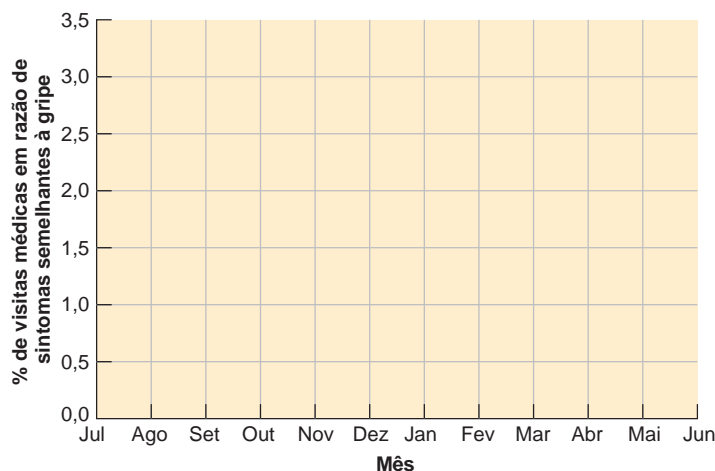
5. Na epidemiologia experimental, experimentos controlados criados para testar uma hipótese são realizados.
6. A notificação de casos gera dados sobre a incidência e a prevalência de doenças para as autoridades de saúde locais, estaduais e federais.
7. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) é a principal fonte de informações epidemiológicas nos Estados Unidos.
8. O CDC publica o Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*), fornecendo informações sobre morbidade (incidência) e mortalidade (taxa de morte).

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Diferencie os termos de cada um dos seguintes pares:
   - **a.** Etiologia e patogênese.
   - **b.** Infecção e doença.
   - **c.** Doença comunicável e não comunicável.
2. Defina simbiose. Diferencie comensalismo, mutualismo e parasitismo e dê exemplos de cada um.
3. **DESENHE** Usando os dados a seguir, desenhe um gráfico mostrando a incidência de gripe durante um ano típico. Indique os níveis endêmicos e epidêmicos.

Mês	Percentual de visitas médicas em razão de sintomas semelhantes à gripe
Jan	2,33
Fev	3,21
Mar	2,68
Abr	1,47
Mai	0,97
Jun	0,30
Jul	0,30
Ago	0,20
Set	0,20
Out	1,18
Nov	1,54
Dez	2,39

4. Indique se cada uma das seguintes condições é típica de infecções subagudas, agudas ou crônicas.
   - **a.** O paciente tem uma crise súbita de mal-estar. Os sintomas duram cinco dias.
   - **b.** O paciente em tosse e dificuldade de respirar por meses.
   - **c.** O paciente não apresenta sintomas aparentes e é sabidamente um portador.
5. De todos os pacientes com infecções, um terço não apresentava qualquer infecção ao entrar no hospital. Como eles adquiriram estas infecções? Qual é o método de transmissão das infecções?Qual é seu reservatório?
6. Diferencie sintomas e sinais de uma doença.
7. Como uma infecção local pode se transformar em uma infecção sistêmica?
8. Por que alguns micro-organismos que constituem a nossa microbiota normal são descritos como comensais, enquanto outros são descritos como mutualistas?
9. Coloque os termos seguintes na ordem correta para explicar o padrão de desenvolvimento de uma doença: período de convalescência, período prodrômico, período de declínio, período de incubação e período de doença.

Múltipla escolha

1. O surgimento de novas doenças infecciosas provavelmente ocorre devido a todas as opções a seguir, exceto:
   - **a.** A necessidade que as bactérias têm de causar doenças.
   - **b.** A possibilidade dos seres humanos de fazerem viagens aéreas.
   - **c.** Mudanças ambientais (alagamentos, secas, poluição, etc.).
   - **d.** Um patógeno que consegue cruzar a barreira entre as espécies.
   - **e.** O aumento da população humana.
2. Todos os membros de uma equipe de ornitologistas que estudavam corujas-das-torres na natureza adquiriram salmonelose (gastrenterite por *Salmonella*). Um dos pesquisadores apresentava a doença pela terceira vez. Qual é a fonte mais provável da infecção dessas pessoas?
   - **a.** Os ornitologistas estão comendo a mesma comida.
   - **b.** Eles estão contaminando suas mãos ao manusear as corujas e seus ninhos.
   - **c.** Um dos pesquisadores é portador de *Salmonella*.
   - **d.** Sua água potável está contaminada.
3. Qual das seguintes afirmações está incorreta?
   - **a.** A *E. coli* nunca causa doenças.
   - **b.** A *E. coli* fornece vitamina K para seu hospedeiro.
   - **c.** A *E. coli* frequentemente existe em uma relação mutualista com os seres humanos.
   - **d.** A *E. coli* obtém nutrientes do conteúdo intestinal.

4. Qual das seguintes opções não faz parte dos postulados de Koch?
   a. O mesmo patógeno deve estar presente em todos os casos da doença.
   b. O patógeno deve ser isolado do hospedeiro doente e cultivado em cultura pura.
   c. O patógeno originado da cultura pura deve causar doença quando inoculado em um animal de laboratório saudável e suscetível.
   d. A doença deve ser transmitida de um animal doente para um animal saudável e suscetível por alguma forma de contato.
   e. O patógeno deve ser isolado em cultura pura a partir de um animal de laboratório experimentalmente infectado.

5. Qual das doenças seguintes não está corretamente pareada com seu reservatório?
   a. Gripe (influenza) – humanos.
   b. Raiva – animal.
   c. Botulismo – inanimado.
   d. Antraz – inanimado.
   e. Toxoplasmose – gatos.

Use a seguinte informação para responder as questões 6 e 7.

No dia 6 de setembro, um menino de 6 anos apresentou febre, calafrios e vômito. No dia seguinte, ele foi hospitalizado com diarreia e aumento dos linfonodos axilares de ambos os braços. No dia 3 de setembro, o menino havia sido arranhado e mordido por um gato. O gato foi encontrado morto no dia 5 de setembro, sendo isolada dele a bactéria *Yersinia pestis*. Cloranfenicol foi administrado ao menino a partir do dia 7 de setembro, data em que a bactéria foi isolada dele. No dia 17 de setembro, a temperatura do menino voltou ao normal, e no dia 22 de setembro ele recebeu alta do hospital.

6. Identifique o período de incubação para este caso de peste bubônica.
   a. 3 a 5 de setembro.
   b. 3 a 6 de setembro.
   c. 6 a 7 de setembro.
   d. 6 a 17 de setembro.

7. Identifique o período prodrômico da doença.
   a. 3 a 5 de setembro.
   b. 3 a 6 de setembro.
   c. 6 a 7 de setembro.
   d. 6 a 17 de setembro.

Use a seguinte informação para responder as questões 8 a 10.

Uma mulher natural de Maryland, Estados Unidos, foi hospitalizada com desidratação; as bactérias *Vibrio cholerae* e *Plesiomonas shigelloides* foram isoladas da paciente. Ela não havia viajado para fora dos Estados Unidos e nem havia ingerido mariscos crus no mês anterior, porém havia comparecido a uma festa dois dias antes de sua hospitalização. Duas outras pessoas que compareceram à festa apresentaram diarreia aguda e níveis elevados de anticorpos contra *Vibrio*. Todos na festa ingeriram siri e pudim de arroz com leite de coco. As sobras de siri da festa foram servidas em uma segunda festa, e uma das 20 pessoas presentes apresentou diarreia leve. Amostras de 14 pessoas na segunda festa foram negativas para anticorpos contra *Vibrio*.

8. Este é um exemplo de:
   a. Transmissão por veículo.
   b. Transmissão aérea.
   c. Transmissão por fômite.
   d. Transmissão por contato direto.
   e. Transmissão nosocomial.

9. O agente etiológico da doença é:
   a. *Plesiomonas shigelloides.*
   b. Siris.
   c. *Vibrio cholerae.*
   d. Leite de coco.
   e. Pudim de arroz.

10. A fonte da doença foi:
   a. *Plesiomonas shigelloides.*
   b. Siri.
   c. *Vibrio cholerae.*
   d. Leite de coco.
   e. Pudim de arroz.

Pensamento crítico

1. Dez anos antes de Robert Koch publicar seu trabalho sobre antraz, Anton De Bary demonstrou que a praga da batata era causada pela alga *Phytophthora infestans*. Por que você acha que usamos os postulados de Koch em vez de algo como os "postulados de De Bary"?

2. Florence Nightingale coletou os seguintes dados em 1855:

População avaliada	Mortes por doenças contagiosas
Civis ingleses (população em geral)	0,2%
Soldados ingleses (na Inglaterra)	18,7%
Soldados ingleses (na guerra da Crimeia)	42,7%
Soldados ingleses (na guerra da Crimeia) depois das reformas sanitárias de Nightingale	2,2%

Discuta como Nightingale usou os três tipos básicos de investigação epidemiológica. As doenças contagiosas eram principalmente cólera e tifo; como estas doenças são transmitidas e prevenidas?

3. Cite a forma de transmissão de cada uma das seguintes doenças:
   a. Malária.
   b. Tuberculose.
   c. Infecções nosocomiais.
   d. Salmonelose.
   e. Faringite estreptocócica.
   f. Mononucleose.
   g. Sarampo.
   h. Hepatite A.
   i. Tétano.
   j. Hepatite B.
   k. Uretrite clamidial.

4. O gráfico a seguir mostra a incidência de febre tifoide nos Estados Unidos de 1954 a 2007. Assinale no gráfico quando a doença ocorreu epidêmica ou esporadicamente. Qual parece ser o nível endêmico? O que deveria aparecer no gráfico para demonstrar um estado pandêmico da doença? Como a febre tifoide é transmitida?

Aplicações clínicas

1. Três dias antes de uma enfermeira desenvolver meningococemia, ela auxiliou um procedimento de intubação de um paciente infectado por *Neisseria meningitidis*. Dos 24 profissionais do hospital envolvidos no procedimento, somente a enfermeira adoeceu. Ela se recordou de que foi exposta a secreções nasofaríngeas e não recebeu antibióticos profiláticos. Qual foi o erro cometido pela enfermeira? Como a meningite é transmitida?
2. Três pacientes de um grande hospital adquiriram infecções por *Burkholderia cepacia* durante sua internação. Todos os três receberam crioprecipitados, que são preparados a partir de sangue acondicionado em embalagens plásticas padrão. Antes de sua utilização, as embalagens são colocadas em banhos de água quente para descongelar. Qual é a provável origem da infecção nosocomial? Que característica da *Burkholderia* permite que a bactéria esteja envolvida nesse tipo de infecção?
3. Leia a seguir o histórico de caso de um homem de 49 anos. Identifique cada período no padrão da doença que ele desenvolveu. No dia 7 de fevereiro, ele manipulou um periquito que apresentava sinais de doença respiratória. No dia 9 de março, o homem desenvolveu dor intensa nas pernas, seguida de calafrios e cefaleias intensas. Em 16 de março, ele apresentou dores no peito, tosse e diarreia, e sua temperatura se elevou a 40°C. Antibióticos apropriados foram administrados no dia 17 de março, e sua febre cedeu em 12 horas. Ele continuou tomando antibióticos por 14 dias. (*Nota*: a doença é psitacose. Você pode indicar a etiologia?)
4. Dos pacientes em um grande hospital, 21% adquiriram diarreia e colite por *Clostridium difficile* durante seu período de internação. Estes pacientes necessitaram de períodos mais longos de internação que aqueles que não apresentaram a infecção. Estudos epidemiológicos forneceram as informações mostradas a seguir. Qual é o modo mais provável de transmissão da bactéria em hospitais? Como a transmissão pode ser prevenida?

Taxa de infecção para os pacientes

Quarto simples	7%
Quarto duplo	17%
Quarto triplo	26%

Taxa de isolamento de *C. difficile* em diferentes ambientes

Armação da cama	10%
Cômoda	1%
Assoalho	18%
Campainha de chamada de enfermeiros	6%
Vaso sanitário	3%

Taxa de positividade para o isolamento de *C. difficile* das mãos dos membros da equipe hospitalar em diferentes circunstâncias

Usando luvas	0%
Não usando luvas	59%
Apresentando infecção por *C. difficile* antes do contato com os pacientes	3%
Lavando as mãos com sabão não desinfetante	40%
Lavando as mãos com sabão desinfetante	3%
Não lavando as mãos	20%

5. O *Mycobacterium avium-intracellulare* é prevalente em pacientes com Aids. Em um esforço para determinar a fonte dessa infecção, os sistemas de água hospitalares foram testados. A água continha hipoclorito.

Porcentagens de amostra com *M. avium*

Água quente		Água fria	
Fevereiro	88%	Fevereiro	22%
Junho	50%	Junho	11%

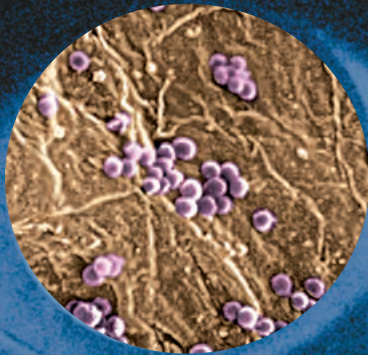
Qual é o método normal de transmissão do *Mycobacterium*?

Qual é a fonte provável de infecção em hospitais? Como essas infecções nosocomiais podem ser prevenidas?

15 Mecanismos Microbianos de Patogenicidade

Agora que você tem um conhecimento básico de como os micro-organismos causam as doenças, discutiremos algumas das propriedades específicas dos micro-organismos que contribuem para a **patogenicidade**, ou seja, a capacidade de causar doenças superando as defesas do hospedeiro, e a **virulência**, ou seja, o grau ou a extensão da patogenicidade. (Como será discutido ao longo do capítulo, o termo *hospedeiro* normalmente se refere aos seres humanos.) Os micróbios não têm a intenção de causar doença; as células microbianas estão apenas se alimentando e se defendendo.

Para os seres humanos, não faz sentido que o parasita mate seu hospedeiro. Entretanto, a natureza não tem um plano para a evolução; as variações genéticas que levam à evolução são devidas a mutações aleatórias, não à lógica. De acordo com a seleção natural, aqueles organismos melhor adaptados a seus ambientes irão se reproduzir. A coevolução entre o parasita e seu hospedeiro parece ocorrer: o comportamento de um influencia diretamente o do outro. Por exemplo, o patógeno da cólera, *Vibrio cholerae*, induz rapidamente uma diarreia que coloca em risco a vida de seu hospedeiro em razão da perda de fluidos e sais, mas também cria uma forma de transmissão de um hospedeiro a outro pela contaminação de fontes de água.

Lembre-se de que muitas das propriedades que contribuem para a patogenicidade e a virulência microbianas ainda não são claramente conhecidas. No entanto, sabemos que, se o micróbio supera as defesas do hospedeiro, o resultado é a doença.

SOB O MICROSCÓPIO

As bactérias (em roxo) apresentam a habilidade de adesão a tecidos do hospedeiro como a pele humana, mostrada aqui.

P&R

Quase todos os patógenos apresentam mecanismos de adesão aos tecidos em sua porta de entrada. Como é chamada essa aderência e como ela ocorre?

Procure pela resposta neste capítulo.

Como os micro-organismos infectam o hospedeiro

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

15-1 Identificar as principais portas de entrada.

15-2 Definir DL_{50} e DI_{50}.

15-3 Usando exemplos, explicar como os micróbios se aderem às células do hospedeiro.

Para causar doença, a maioria dos patógenos deve obter acesso ao hospedeiro, se aderir aos tecidos, penetrar ou evitar as defesas e danificar os tecidos do hospedeiro. Entretanto, alguns micróbios não causam doença pelo dano direto aos tecidos do hospedeiro. Em vez disso, a doença ocorre como resultado do acúmulo de excretas microbianas. Alguns micróbios, como aqueles que causam as cáries dentárias e a acne, podem causar doenças sem penetrar o organismo. Os patógenos podem infectar o corpo humano ou outros hospedeiros por várias vias, denominadas **portas de entrada**.

Portas de entrada

As portas de entrada para os patógenos incluem as membranas mucosas, a pele e a deposição direta sob a pele ou as membranas (via parenteral).

Membranas mucosas

Muitas bactérias e vírus têm acesso ao corpo entrando pelas membranas mucosas que revestem os tratos respiratório, gastrintestinal, geniturinário e a conjuntiva, a membrana delicada que recobre o globo ocular e reveste as pálpebras. A maioria dos patógenos entra no hospedeiro através das mucosas dos tratos gastrintestinal e respiratório.

O trato respiratório é a porta de entrada mais fácil e utilizada com mais frequência pelos micro-organismos. Micróbios são inalados para dentro da cavidade nasal ou boca em gotículas de umidade ou partículas de pó. As doenças comumente adquiridas através do trato respiratório incluem o resfriado comum, a gripe, a pneumonia, a tuberculose, o sarampo e a varíola.

Os micro-organismos podem ter acesso ao trato gastrintestinal através de água, alimentos ou dedos contaminados. A maioria dos micróbios que entra no corpo por essa via é destruída pelo ácido clorídrico (HCl) e pelas enzimas presentes no estômago, ou pela bile e enzimas no intestino delgado. Aqueles que sobrevivem podem causar doença. Os micróbios no trato gastrintestinal podem causar poliomielite, hepatite A, febre tifoide, disenteria amebiana, giardíase, shigelose (disenteria bacteriana) e cólera. Esses patógenos são então eliminados nas fezes e podem ser transmitidos a outros hospedeiros pela água e por alimentos ou dedos contaminados.

O trato geniturinário é a porta de entrada de patógenos que são sexualmente transmitidos. Alguns micróbios que causam doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) podem entrar no organismo através de membranas mucosas íntegras. Outros requerem a presença de cortes ou abrasões de algum tipo. Exemplos de DSTs incluem infecção pelo HIV, verrugas genitais, clamídia, herpes, sífilis e gonorreia.

Pele

A pele é o maior órgão do corpo humano em termos de área de superfície e peso, sendo uma importante barreira defensiva contra doenças. A pele íntegra é impenetrável para a maioria dos micro-organismos. Alguns micróbios podem ter acesso ao corpo através de aberturas na pele, como folículos pilosos e ductos sudoríparos. Além disso, as larvas de ancilóstomo podem perfurar a pele intacta, e alguns fungos podem crescer na queratina da pele ou infectar a pele em si.

A conjuntiva é uma membrana mucosa delicada que reveste as pálpebras e cobre a parte branca dos globos oculares. Embora seja uma barreira relativamente eficiente contra infecções, certas doenças como a conjuntivite, o tracoma e a oftalmia neonatal podem ser adquiridas pela conjuntiva.

Via parenteral

Outros micro-organismos podem ter acesso ao corpo quando são depositados diretamente nos tecidos sob a pele ou nas membranas mucosas, quando estas barreiras são penetradas ou danificadas. Essa rota é chamada de **via parenteral**. Perfurações, injeções, mordidas, cortes, ferimentos, cirurgias e rompimento da pele ou das membranas mucosas por inchaços podem estabelecer vias parenterais. O HIV, os vírus que causam hepatites e as bactérias que causam tétano e gangrenas podem ser transmitidos parenteralmente.

As portas de entrada preferenciais

Mesmo depois que os micro-organismos entram no corpo, eles não necessariamente causam doenças. A ocorrência de doença depende de vários fatores, sendo que a porta de entrada é apenas um deles. Muitos patógenos possuem uma porta de entrada preferencial que é um pré-requisito para serem capazes de causar doença. Se eles entram no organismo por alguma outra porta de entrada, a doença pode não ocorrer. Por exemplo, a bactéria que causa a febre tifoide, *Salmonella typhi*, produz todos os sinais e sintomas da doença quando engolida (via preferencial), mas se a mesma bactéria é esfregada na pele, não ocorre reação (talvez apenas uma leve inflamação). Os estreptococos que são inalados (via preferencial) podem causar pneumonia. Já aqueles que são engolidos geralmente não produzem sinais ou sintomas. Alguns patógenos, como a *Yersinia pestis*, o micro-organismo que causa a peste, e o *Bacillus anthracis,* o agente causador do antraz, podem iniciar doenças a partir de mais de uma porta de entrada. As portas de entrada preferenciais de alguns patógenos são listadas na **Tabela 15.1**.

Números de micro-organismos invasores

Se apenas alguns micróbios penetrarem o corpo, eles provavelmente serão eliminados pelas defesas do hospedeiro. Entretanto, se um grande número de micróbios obtiver acesso ao organismo, o cenário está pronto para o desenvolvimento de doença. Assim, a possibilidade da ocorrência de doença aumenta à medida que o número de patógenos se eleva.

A virulência de um micro-organismo frequentemente é expressa como $\mathbf{DI_{50}}$ (dose infectante para 50% de uma amostra da população). O número 50 não é um valor absoluto; ele é usado para comparar a virulência relativa sob condições experimentais. O *Bacillus anthracis* pode causar infecções através de três diferentes por-

Tabela 15.1 Portas de entrada para os patógenos e algumas doenças comuns

Porta de entrada	Patógeno*	Doença	Período de incubação
Membranas mucosas			
Trato respiratório	*Streptococcus pneumoniae*	Pneumonia pneumocócica	Variável
	Mycobacterium tuberculosis[†]	Tuberculose	Variável
	Bordetella pertussis	Coqueluche	12 a 20 dias
	Vírus influenza (*Influenzavirus*)	Gripe (influenza)	18 a 36 horas
	Vírus do sarampo (*Morbillivirus*)	Sarampo	11 a 14 dias
	Vírus da rubéola (*Rubivirus*)	Rubéola	2 a 3 semanas
	Vírus Epstein-Barr (*Lymphocryptovirus*)	Mononucleose infecciosa	2 a 6 semanas
	Vírus varicela zoster (*Varicellavirus*)	Catapora (varicela) (infecção primária)	14 a 16 dias
	Histoplasma capsulatum (fungo)	Histoplasmose	5 a 18 dias
Trato gastrintestinal	*Shigella* spp.	Shigelose	1 a 2 dias
	Brucella spp.	Brucelose	6 a 14 dias
	Vibrio cholerae	Cólera	1 a 3 dias
	Salmonella enterica	Salmonelose	7 a 22 horas
	Salmonella typhi	Febre tifoide	14 dias
	Vírus da hepatite A (*Hepatovirus*)	Hepatite A	15 a 50 dias
	Vírus da caxumba (*Rubulavirus*)	Caxumba	2 a 3 semanas
	Trichinella spiralis (helminto)	Triquinelose	2 a 28 dias
Trato geniturinário	*Neisseria gonorrhoeae*	Gonorreia	3 a 8 dias
	Treponema pallidum	Sífilis	9 a 90 dias
	Chlamydia trachomatis	Uretrite não gonocócica	1 a 3 semanas
	Vírus do Herpes Simples tipo 2	Infecções herpéticas	4 a 10 dias
	Vírus da imunodeficiência humana (HIV)[‡]	Aids	10 anos
	Candida albicans (fungo)	Candidíase	2 a 5 dias
Pele ou via parenteral			
	Clostridium perfringens	Gangrena gasosa	1 a 5 dias
	Clostridium tetani	Tétano	3 a 21 dias
	Rickettsia rickettsii	Febre maculosa das Montanhas Rochosas	3 a 12 dias
	Vírus da hepatite B (*Hepadnavirus*)[‡]	Hepatite B	6 semanas a 6 meses
	Vírus da raiva (*Lyssavirus*)	Raiva	10 dias a 1 ano
	Plasmodium spp. (protozoário)	Malária	2 semanas

* Todos os patógenos são bactérias, a não ser quando indicado. Para os vírus, o nome da espécie e/ou gênero é fornecido.
[†] Esses patógenos também podem causar doença ao entrarem no organismo pelo trato gastrintestinal.
[‡] Esses patógenos também podem causar doença ao entrarem no organismo pela via parenteral. O vírus da hepatite B e o HIV também podem gerar doença depois de entrarem no organismo pelo trato geniturinário.

tas de entrada. A DI_{50} através da pele (antraz cutâneo) é de 10 a 50 endosporos; a DI_{50} para a inalação de antraz é de 10.000 a 50.000 endosporos; e a DI_{50} para o antraz gastrintestinal é a ingestão de 250.000 a 1.000.000 de endosporos. Esses dados demonstram que o antraz cutâneo é significativamente mais fácil de ser adquirido do que as formas inalatória ou gastrintestinal. Um estudo com o *Vibrio cholerae* mostrou que a DI_{50} é de 10^8 células. No entanto, se a acidez estomacal é neutralizada com bicarbonato de sódio, o número de células necessárias para causar a infecção diminui significativamente.

A potência de uma toxina muitas vezes é expressa como **DL_{50}** (dose letal para 50% de uma amostra da população). A DL_{50} para a toxina botulínica em camundongos, por exemplo, é de 0,03 ng/kg, para a toxina Shiga, 250 ng/kg, e para a enterotoxina estafilocócica,

(a) As moléculas na superfície de um patógeno, chamadas de adesinas ou ligantes, se ligam especificamente a receptores de superfície complementares nas células de certos tipos de tecidos do hospedeiro.

(b) Bactérias *E. coli* (amarelo esverdeado) em células da bexiga urinária de seres humanos

MEV 1 µm

(c) Bactérias (roxo) se aderindo à pele humana.

9 µm

Figura 15.1 **Aderência.**

P **Como as adesinas são classificadas bioquimicamente?**

1.350 ng/kg. Em outras palavras, comparada às outras duas, uma quantidade muito menor da toxina botulínica é suficiente para causar os sintomas.

Aderência

P&R Quase todos os patógenos apresentam algum mecanismo para se aderir aos tecidos do hospedeiro em sua porta de entrada. Para a maioria dos patógenos esse fenômeno, chamado de **aderência** (ou **adesão**), é uma etapa necessária para a patogenicidade. (É claro que os micro-organismos não patogênicos também possuem estruturas de fixação). A aderência entre o patógeno e o hospedeiro é obtida por moléculas na superfície do patógeno, denominadas **adesinas** ou **ligantes**, que se ligam especificamente a **receptores** complementares de superfície nas células de certos tipos de tecidos do hospedeiro (**Figura 15.1**). As adesinas podem estar localizadas no glicocálice ou em outras estruturas da superfície microbiana, como pili, fímbrias e flagelos (veja o Capítulo 4).

A maioria das adesinas nos micro-organismos estudados até hoje é constituída por glicoproteínas ou lipoproteínas. Os receptores nas células do hospedeiro tipicamente são açúcares, como a manose. As adesinas em diferentes cepas de uma mesma espécie podem variar em sua estrutura. Diferentes células de um mesmo hospedeiro também podem ter diferentes receptores que variam em sua estrutura. Se as adesinas, os receptores ou ambos podem ser alterados para interferir na aderência, infecções podem ser evitadas (ou pelo menos controladas).

Os exemplos a seguir ilustram a diversidade das adesinas. O *Streptococcus mutans*, uma bactéria que desempenha um papel fundamental na degradação dentária, se liga à superfície dos dentes por meio de seu glicocálice. Uma enzima produzida pelo *S. mutans*, chamada de glicosiltransferase, converte a glicose (derivada da sacarose ou açúcar de mesa) em um polissacarídeo aderente denominado dextrana, que faz parte do glicocálice da bactéria. Células bacterianas de *Actinomyces* possuem fímbrias que se aderem ao glicocálice de *S. mutans*. A combinação de *S. mutans*, *Actinomyces* e dextrana constitui a placa dentária e contribui para a cárie (deterioração dentária; veja o Capítulo 25, página 707).

Os micro-organismos possuem a habilidade de se agrupar em grandes quantidades, aderir a superfícies e compartilhar os nutrientes disponíveis. Essas comunidades, constituídas por grandes quantidades de micróbios e seus produtos extracelulares que se aderem a superfícies vivas ou inanimadas, são chamadas de **biofilmes** (discutidos em mais detalhes no Capítulo 6, página 162). Exemplos de biofilmes incluem a placa dentária, as algas nas paredes de piscinas e a escuma que eventualmente se acumula em portas de chuveiros ou azulejos. Um biofilme se forma quando micro-organismos se aderem a uma superfície específica, tipicamente úmida e que contém matéria orgânica. Os primeiros micro-organismos a aderir normalmente são bactérias. Uma vez aderidas à superfície, elas se multiplicam e secretam o glicocálice, que intensifica ainda mais a ligação de uma célula à outra e à superfície (veja a Figura 6.5, página 163). Em alguns casos, o biofilme pode apresentar várias camadas e ser constituído por diversos tipos de micro-organismos. Os biofilmes representam outro método de aderência muito importante, pois são resistentes a desinfetantes e antibióticos. Essa característica é significativa, especialmente quando os biofilmes colonizam estruturas como dentes, cateteres médicos, endopróteses expansíveis, válvulas cardíacas, próteses e lentes de contato. A placa dentária é, na verdade, um biofilme que mineraliza com o tempo. Estima-se que os biofilmes estejam envolvidos em cerca de 65% de todas as infecções bacterianas em seres humanos. Veja o Quadro no Capítulo 6, página 164.

As cepas enteropatogênicas de *E. coli* (responsáveis por doenças gastrintestinais) possuem adesinas ou fímbrias que se aderem apenas a tipos específicos de células em certas regiões do intestino delgado. Após a aderência, *Shigella* e *E. coli* induzem a endocitose como um veículo para penetrarem as células do hospedeiro e então se multiplicam em seu interior (veja a Figura 25.7, página 712). O *Treponema pallidum*, o agente causador da sífilis, utiliza sua extremidade afilada como um gancho para se fixar às células do hospedeiro. A *Listeria monocytogenes*, que causa meningite, aborto espontâneo e nascimento de bebês natimortos, produz uma adesina para um receptor específico nas células do hospedeiro. A *Neisseria gonorrhoeae,* o agente causador da gonorreia, também possui

fímbrias contendo adesinas, que permitem sua adesão a células que possuem os receptores apropriados no trato geniturinário, olhos e faringe. O *Staphylococcus aureus*, que causa infecções de pele, se liga à pele através de um mecanismo de aderência semelhante à adsorção viral (veja o Capítulo 13).

TESTE SEU CONHECIMENTO

- Liste três portas de entrada e descreva quais micro-organismos utilizam cada uma delas? **15-1**
- A DL_{50} da toxina botulínica é de 0,03 ng/kg; a DL_{50} da toxina de *Salmonella* é de 12 mg/kg. Qual das duas é a toxina mais potente? **15-2**
- Como uma droga que se liga à manose das células humanas afeta a patogenicidade de uma bactéria? **15-3**

Como os patógenos bacterianos ultrapassam as defesas do hospedeiro

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

15-4 Explicar como as cápsulas e os componentes da parede celular contribuem para a patogenicidade.

15-5 Comparar os efeitos das coagulases, das cinases, da hialuronidase e da colagenase.

15-6 Definir e dar exemplos de variação antigênica.

15-7 Descrever como as bactérias utilizam o citoesqueleto celular para entrar na célula.

Embora alguns patógenos possam causar dano quando na superfície dos tecidos, a maioria precisa entrar nos tecidos para causar doenças. Nesta seção consideraremos diversos fatores que contribuem para a capacidade da bactéria de invadir o hospedeiro.

Cápsulas

Lembre-se de que, como visto no Capítulo 4, algumas bactérias produzem substâncias no glicocálice que formam cápsulas ao redor de sua parede celular; essa propriedade aumenta a virulência da espécie. A cápsula resiste às defesas do hospedeiro por impedir a fagocitose, o processo pelo qual certas células do organismo engolfam e destroem micro-organismos (veja o Capítulo 16, página 458). A natureza química da cápsula parece impedir que a célula fagocítica se ligue à bactéria. Entretanto, o corpo humano pode produzir anticorpos contra a cápsula e, quando estes anticorpos estão presentes na superfície da cápsula, as bactérias encapsuladas são facilmente destruídas por fagocitose.

Uma bactéria que deve sua virulência à presença de uma cápsula polissacarídica é o *Streptococcus pneumoniae*, o agente causador da pneumonia estreptocócica (veja a Figura 24.12, página 686). Algumas cepas desse micro-organismo possuem cápsulas e outras não. As cepas com cápsulas são virulentas, mas as cepas sem cápsulas são avirulentas, pois são suscetíveis à fagocitose. Outras bactérias que possuem cápsula são *Klebsiella pneumoniae*, o agente causador da pneumonia bacteriana; *Haemophilus influenzae*, uma causa de pneumonia e meningite em crianças; *Bacillus anthracis*, a causa do antraz; e *Yersinia pestis*, o agente causador da peste bubônica. Lembre-se de que as cápsulas não são a única causa da virulência. Muitas bactérias não patogênicas também possuem cápsulas, e a virulência de alguns patógenos não está relacionada à presença de uma cápsula.

Componentes da parede celular

A parede celular de certas bactérias contém substâncias químicas que contribuem para a virulência. O *Streptococcus pyogenes*, por exemplo, produz uma proteína resistente ao calor e à acidez denominada **proteína M** (veja a Figura 21.6, página 591). Essa proteína é encontrada tanto na superfície celular quanto nas fímbrias. A proteína M medeia a aderência da bactéria às células epiteliais do hospedeiro e auxilia na resistência bacteriana à fagocitose pelos glóbulos brancos. Assim, a proteína aumenta a virulência do micro-organismo. A imunidade ao *S. pyogenes* depende da produção, pelo organismo, de anticorpos específicos contra a proteína M. A *Neisseria gonorrhoeae* cresce dentro das células epiteliais e dos leucócitos humanos. Essas bactérias usam suas **fímbrias** e outras proteínas externas, denominadas **Opa**, para aderir às células do hospedeiro. Após a adesão, via Opa e fímbrias, a célula do hospedeiro absorve a bactéria (bactérias que produzem Opa formam colônias *opacas* em meios de cultura). O **ácido micólico** que constitui a parede celular de *Mycobacterium tuberculosis* também aumenta sua virulência por resistir à digestão por fagócitos, permitindo que a bactéria possa até mesmo se multiplicar dentro desses fagócitos.

Enzimas

Acredita-se que a virulência de algumas bactérias seja auxiliada pela produção de enzimas extracelulares (exoenzimas) e substâncias relacionadas. Essas substâncias químicas podem digerir o material entre as células e induzir a formação ou a degradação de coágulos sanguíneos, entre outras funções.

As **coagulases** são enzimas bacterianas que coagulam o fibrinogênio no sangue. O fibrinogênio, uma proteína plasmática produzida no fígado, é convertido em fibrina pela ação das coagulases, gerando a malha que forma o coágulo sanguíneo. Os coágulos de fibrina podem proteger a bactéria da fagocitose e isolá-la de outras defesas do hospedeiro. As coagulases são produzidas por alguns membros do gênero *Staphylococcus,* podendo estar envolvidas na formação de abscessos produzidos pelos estafilococos. Entretanto, alguns estafilococos que não produzem coagulases ainda podem ser virulentos (uma vez que as cápsulas podem ser mais importantes para sua virulência).

Cinases (ou **quinases**) bacterianas são enzimas que degradam a fibrina e assim digerem coágulos formados pelo organismo para isolar a infecção. Uma das cinases mais conhecidas é a *fibrinolisina* (*estreptocinase*), que é produzida por alguns estreptococos como o *Streptococcus pyogenes*. Outra cinase, a estafilocinase, é produzida pelo *Staphylococcus aureus*. Injetada na corrente sanguínea, a estreptocinase tem sido usada para remover alguns tipos de coágulos sanguíneos em casos de infartos causados pela obstrução das artérias coronárias.

A **hialuronidase** é outra enzima secretada por certas bactérias, como os estreptococos. Ela hidrolisa o ácido hialurônico, um tipo de polissacarídeo que une certas células do corpo, particularmente em tecidos conectivos. Acredita-se que essa ação digestiva esteja

envolvida na necrose de ferimentos infectados e que auxilie na dispersão do micro-organismo a partir de seu sítio inicial de infecção. A hialuronidase também é produzida por algumas bactérias do gênero *Clostridium* que causam a gangrena. Para uso terapêutico, a hialuronidase pode ser misturada com uma droga para promover sua disseminação por todos os tecidos do corpo.

Uma outra enzima, a **colagenase**, produzida por várias espécies de *Clostridium*, facilita a disseminação da gangrena gasosa. A colagenase quebra a proteína colágeno, que forma os tecidos conectivos de músculos e de outros órgãos e tecidos.

Como defesa contra a aderência de patógenos a superfícies mucosas, o organismo produz uma classe de anticorpos chamados de IgA. No entanto, alguns patógenos apresentam a habilidade de produzir enzimas, denominadas **proteases IgA**, que podem destruir esses anticorpos. A *N. gonorrhoeae* possui essa habilidade, assim como a *N. meningitidis*, o agente causador da meningite meningocócica, e outros micróbios que infectam o sistema nervoso central.

Variação antigênica

No Capítulo 17 você aprenderá que a imunidade adaptativa (adquirida) se refere a uma resposta defensiva específica do corpo a uma infecção ou aos antígenos. Na presença de antígenos, o organismo produz proteínas denominadas anticorpos, que se ligam aos antígenos e os tornam inativos ou os destroem. Entretanto, alguns patógenos podem alterar seus antígenos de superfície por um processo denominado **variação antigênica**. Assim, quando o corpo monta uma resposta imune contra o patógeno, ele já alterou seus antígenos de forma a não ser mais reconhecido e afetado pelos anticorpos. Alguns micróbios podem ativar genes alternativos, o que resulta em mudanças antigênicas. A *N. gonorrhoeae*, por exemplo, possui em seu genoma diversas cópias do gene codificador da proteína Opa, resultando em células que apresentam diferentes antígenos que são expressos com o tempo.

Uma grande variedade de micro-organismos é capaz de apresentar variação antigênica. Exemplos incluem o *Influenzavirus*, o agente causador da gripe; a *Neisseria gonorrhoeae*, que causa a gonorreia; e o *Trypanosoma brucei gambiense,* o agente causador da tripanossomíase africana (doença do sono). Veja a Figura 22.16, página 629.

Penetração no citoesqueleto das células do hospedeiro

Como previamente mencionado, os micro-organismos se aderem às células dos hospedeiros por meio de adesinas. Essa interação desencadeia cascatas de sinalização no hospedeiro que ativam fatores que resultam na entrada de algumas bactérias na célula. O mecanismo é fornecido pelo citoesqueleto da célula hospedeira. Lembre-se do Capítulo 4 que o citoplasma de células eucarióticas apresenta uma complexa estrutura interna (denominada citoesqueleto), que consiste em filamentos proteicos chamados de microfilamentos, filamentos intermediários e microtúbulos. Um dos principais componentes do citoesqueleto é uma proteína denominada actina, utilizada por alguns micróbios para entrar na célula hospedeira e por outros para se mover entre diferentes células do hospedeiro.

Figura 15.2 ***Salmonella* invadindo as células epiteliais do intestino como resultado do enrugamento da membrana plasmática.**

P O que são invasinas?

Cepas de *Salmonella* e *E. coli* entram em contato com a membrana plasmática das células do hospedeiro. Isso causa uma alteração dramática na membrana no ponto de contato. Os micróbios produzem proteínas de superfície, chamadas de **invasinas**, que causam o rearranjo dos filamentos de actina do citoesqueleto celular próximos ao ponto de contato bacteriano. Quando *S. typhimurium* entra em contato com uma célula hospedeira, por exemplo, invasinas do micróbio fazem com que a aparência da membrana plasmática se assemelhe a uma gota que se espalha ao atingir uma superfície sólida. Esse efeito, chamado de *enrugamento da membrana*, é o resultado da desorganização do citoesqueleto da célula hospedeira (Figura 15.2). O micro-organismo mergulha em uma das dobras da membrana e é engolfado pela célula hospedeira.

Uma vez dentro da célula hospedeira, certas bactérias, como espécies de *Shigella* e *Listeria,* podem utilizar a actina para propelir-se através do citoplasma da célula e de uma célula hospedeira para outra. A condensação da actina em uma das extremidades da bactéria a propele pelo citoplasma. As bactérias também entram em contato com as junções de membrana que compõem uma rede de transporte entre as células hospedeiras. As bactérias usam uma glicoproteína denominada caderina, que conecta as junções, para se mover de uma célula à outra.

O estudo das numerosas interações entre os micróbios e o citoesqueleto da célula hospedeira é uma área muito intensa de investigação sobre os mecanismos de virulência.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Que funções a cápsula e a proteína M têm em comum? **15-4**
- ✓ Você esperaria que uma mesma bactéria produzisse coagulase e cinase simultaneamente? **15-5**
- ✓ Muitas vacinas garantem anos de proteção contra uma doença. Por que a vacina contra a gripe (influenza) não oferece mais do que alguns meses de proteção? **15-6**
- ✓ Como a *E. coli* causa o enrugamento da membrana plasmática? **15-7**

Como os patógenos bacterianos danificam as células do hospedeiro

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

15-8 Descrever a função dos sideróforos.

15-9 Dar um exemplo de dano direto e compará-lo à produção de toxina.

15-10 Contrastar a natureza e os efeitos das endotoxinas e das exotoxinas.

15-11 Apresentar os mecanismos de ação das toxinas A-B, das toxinas danificadoras de membranas e dos superantígenos. Classificar toxina diftérica, toxina eritrogênica, toxina botulínica, toxina tetânica, enterotoxina colérica e enterotoxina estafilocócica.

15-12 Identificar a importância do ensaio de LAL.

15-13 Usando exemplos, descrever o papel dos plasmídeos e da lisogenia na patogenicidade.

Quando um micro-organismo invade um tecido corporal, inicialmente encontra os fagócitos do hospedeiro. Se os fagócitos obtêm sucesso em destruir o invasor, nenhum outro dano é causado ao hospedeiro. Porém, se o patógeno supera as defesas do hospedeiro, o micro-organismo pode danificar as células de quatro formas básicas: (1) utilizando os nutrientes do hospedeiro; (2) causando dano direto à região da invasão; (3) produzindo toxinas, que são transportadas pelo sangue e pela linfa, danificando sítios distantes do local inicial da infecção; e (4) induzindo reações de hipersensibilidade. O quarto mecanismo é considerado em detalhe no Capítulo 19. A seguir, discutiremos apenas os três primeiros mecanismos.

Utilizando os nutrientes do hospedeiro: sideróforos

O ferro é necessário para o crescimento da maioria das bactérias. Entretanto, a concentração de ferro livre no corpo humano é muito pequena, uma vez que a maior parte do ferro está firmemente ligada às proteínas transportadoras de ferro, como a lactoferrina, a transferrina e a ferritina, assim como à hemoglobina, discutidas em mais detalhe no Capítulo 16. Para obterem ferro livre, alguns patógenos secretam proteínas denominadas **sideróforos** (**Figura 15.3**). Quando um patógeno precisa de ferro, os sideróforos são liberados no meio, onde removem o ferro das proteínas transportadoras se ligando de forma ainda mais intensa aos átomos de ferro. Quando o complexo sideróforo-ferro é formado, ele se liga a receptores de sideróforos na superfície da bactéria, sendo absorvido por ela. Dessa forma, o ferro é levado para dentro da célula bacteriana. Em alguns casos, o ferro é liberado do complexo antes de entrar na bactéria, já em outros, o ferro entra na forma complexada.

Como uma alternativa à aquisição de ferro via sideróforos, alguns patógenos apresentam receptores que se ligam diretamente às proteínas transportadoras de ferro e à hemoglobina. Essas moléculas são absorvidas diretamente pela bactéria junto com o ferro. Além disso, é possível que algumas bactérias produzam toxinas (descritas em breve) quando os níveis de ferro estão baixos. As toxinas matam as células do hospedeiro, liberando ferro e tornando-o disponível para a bactéria.

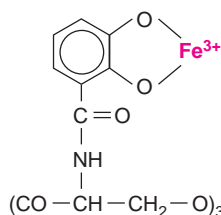



Figura 15.3 Estrutura da enterobactina, um tipo de sideróforo bacteriano. Note o local onde o ferro (Fe^{3+}) está ligado ao sideóforo.

P Qual a importância dos sideróforos?

Dano direto

Uma vez que os patógenos se aderem às células do hospedeiro, eles podem causar danos diretos à medida que usam essas células para a obtenção de nutrientes e geram dejetos. Quando os patógenos metabolizam e se multiplicam nas células, elas normalmente se rompem. Muitos vírus e algumas bactérias e protozoários intracelulares que se desenvolvem dentro das células do hospedeiro são liberados quando as células se rompem. Após sua liberação, os patógenos que lisam as células podem se dispersar para outros tecidos em números ainda maiores. Algumas bactérias, como *E. coli, Shigella, Salmonella* e *Neisseria gonorrhoeae,* podem induzir as células epiteliais a engolfá-las por um processo semelhante à fagocitose. Elas podem romper as células hospedeiras à medida que passam através delas e podem então ser liberadas da célula por um processo de fagocitose reversa, permitindo às bactérias que entrem em outras células. Algumas bactérias também podem entrar na célula hospedeira pela excreção de enzimas e também por sua própria mobilidade. Esses processos de penetração podem, por si só, danificar as células do hospedeiro. A maioria dos danos causados pelas bactérias, no entanto, ocorre pela ação das toxinas.

A produção de toxinas

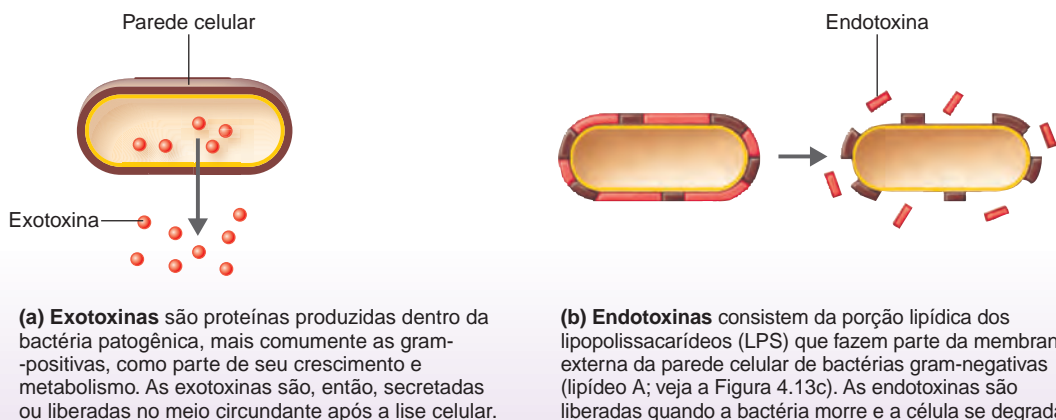
As **toxinas** são substâncias venenosas produzidas por certos micro-organismos. Elas frequentemente são o fator primário que contribui para as propriedades patogênicas desses micróbios. A capacidade dos micro-organismos de produzir toxinas é chamada de **toxigenicidade**. As toxinas transportadas pelo sangue ou pela linfa podem causar efeitos graves e muitas vezes fatais. Algumas toxinas geram febre, distúrbios cardiovasculares, diarreia e choque. As toxinas também podem inibir a síntese proteica, destruir células e vasos sanguíneos e danificar o sistema nervoso central, causando espasmos. Das cerca de 220 toxinas bacterianas conhecidas, aproximadamente 40% causam doenças através do dano às membranas das células eucarióticas. O termo **toxemia** se refere à presença de toxinas no sangue. As toxinas podem ser de dois tipos principais, com base em sua posição relativa à célula microbiana: exotoxinas e endotoxinas.

Exotoxinas

As **exotoxinas** são produzidas no interior de algumas bactérias, como parte de seu crescimento e metabolismo, sendo então secretadas pela bactéria no meio circundante ou liberadas após a lise celular (**Figura 15.4a**). As exotoxinas são proteínas, e muitas são enzimas que catalisam apenas certas reações bioquímicas. Em razão da natureza enzimática da maioria das exotoxinas, mesmo pequenas quantidades são bastante perigosas, pois podem agir várias vezes seguidas. As bactérias que produzem exotoxinas podem ser gram-positivas ou gram-negati-

Figura 15.4

FIGURA FUNDAMENTAL Exotoxinas e endotoxinas

O dano causado ao hospedeiro por bactérias frequentemente é devido a toxinas. Muitas das doenças discutidas na Parte Quatro deste livro envolvem a atividade dessas toxinas.

(a) Exotoxinas são proteínas produzidas dentro da bactéria patogênica, mais comumente as gram-positivas, como parte de seu crescimento e metabolismo. As exotoxinas são, então, secretadas ou liberadas no meio circundante após a lise celular.

(b) Endotoxinas consistem da porção lipídica dos lipopolissacarídeos (LPS) que fazem parte da membrana externa da parede celular de bactérias gram-negativas (lipídeo A; veja a Figura 4.13c). As endotoxinas são liberadas quando a bactéria morre e a célula se degrada.

Conceito-chave

As toxinas podem ser classificadas em dois tipos gerais: exotoxinas e endotoxinas.

vas. Os genes que codificam a maioria (e talvez todas) das exotoxinas são carreados em plasmídeos bacterianos ou fagos. Como as toxinas são solúveis em fluidos corporais, elas podem se difundir facilmente no sangue, sendo rapidamente transportadas por todo o corpo.

As exotoxinas agem destruindo determinadas partes das células do hospedeiro ou inibindo certas funções metabólicas. Elas são altamente específicas em relação aos seus efeitos nos tecidos corporais e estão entre as substâncias mais letais conhecidas. Apenas 1 mg da exotoxina botulínica é suficiente para matar um milhão de cobaias. Felizmente, apenas algumas espécies bacterianas são capazes de produzir exotoxinas tão potentes.

Doenças causadas por bactérias que produzem exotoxinas frequentemente são causadas por quantidades mínimas dessa substância, e não pela bactéria em si. São as exotoxinas que produzem os sinais e os sintomas da doença e, dessa forma, são doença-específicas. O botulismo, por exemplo, normalmente é causado pela ingestão da exotoxina, e não pela infecção bacteriana. De maneira semelhante, a intoxicação alimentar estafilocócica, como o próprio nome diz, é uma intoxicação, e não uma infecção,

O organismo produz anticorpos denominados **antitoxinas**, que promovem imunidade contra as exotoxinas. Quando as exotoxinas são inativadas por calor ou pelo uso de formaldeído, iodo ou outra substância química, não podem mais causar doença, porém ainda são capazes de estimular o sistema imune a produzir antitoxinas. Estas exotoxinas alteradas são denominadas **toxoides**. Quando os toxoides são injetados no corpo, como uma vacina, estimulam a produção de antitoxinas, gerando imunidade. A difteria e o tétano podem ser prevenidos pela vacinação com toxoides.

Nomeando as exotoxinas. As exotoxinas são nomeadas com base em diversas características. Uma delas é o tipo de célula hospedeira afetada pela toxina. Por exemplo, as *neurotoxinas* afetam as células nervosas, as *cardiotoxinas* afetam as células cardíacas, as *leucotoxinas* afetam os leucócitos, as *enterotoxinas* atacam as células que revestem o trato gastrintestinal, e as *citotoxinas* afetam uma ampla variedade de células. Algumas exotoxinas são nomeadas a partir da doença à qual estão associadas. Exemplos incluem a toxina diftérica (causa da difteria) e a toxina tetânica (causa do tétano). Outras toxinas são nomeadas a partir do patógeno específico que as produz, como é o caso da toxina botulínica (*Clostridium botulinum*) e da enterotoxina colérica (*Vibrio cholerae*).

Tipos de exotoxinas. As exotoxinas são divididas em três tipos principais com base em sua estrutura e função: (1) toxinas A-B, (2) toxinas danificadoras de membrana e (3) superantígenos.

Toxinas A-B. As **toxinas A-B** foram as primeiras a serem intensamente estudadas e são assim chamadas por consistirem de duas partes, designadas A e B, sendo que ambas são polipeptídeos. Em sua maioria as exotoxinas são toxinas A-B. A parte A é o componente ativo (enzima) e a parte B o componente de ligação. Um exemplo de toxina A-B é a toxina diftérica, ilustrada na **Figura 15.5**.

1. Na primeira etapa, a toxina A-B é liberada da bactéria.
2. O componente B se liga a um receptor celular.
3. A membrana plasmática da célula do hospedeiro se invagina (dobra para dentro) no ponto onde a toxina A-B e o receptor da membrana plasmática fizeram contato, e a exotoxina entra na célula por endocitose.
4. A exotoxina A-B e o receptor são envolvidos em uma vesícula endocítica.
5. Os componentes A-B da exotoxina se separam. O componente A altera as funções da célula hospedeira, frequentemente pela inibição da síntese proteica. O componente B é liberado da célula hospedeira, e o receptor é reinserido na membrana plasmática da célula para ser usado novamente.

Toxinas danificadoras de membrana. As **toxinas danificadoras de membrana** causam a lise da célula hospedeira pela de-

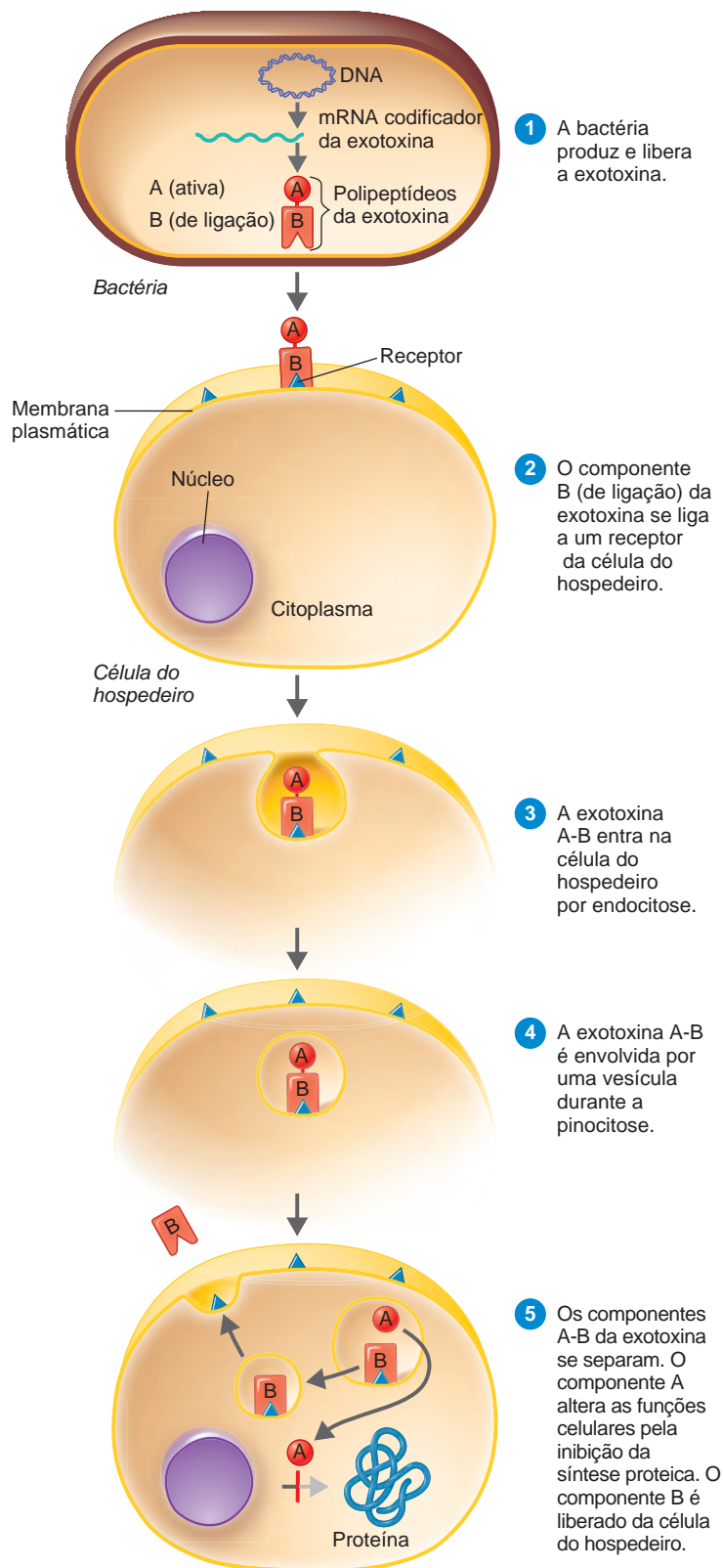



Figura 15.5 A ação da exotoxina A-B. Um modelo proposto para o mecanismo de ação da toxina diftérica.

P Por que ela é chamada de toxina A-B?

gradação de sua membrana plasmática. Algumas toxinas agem pela formação de canais proteicos na membrana plasmática, enquanto outras degradam a porção fosfolipídica da membrana. A exotoxina lítica do *Staphylococcus aureus* é um exemplo de exotoxina que forma canais, enquanto a toxina de *Clostridium perfringens* é um exemplo de exotoxina que degrada fosfolipídeos. As toxinas que degradam membranas contribuem para a virulência pela morte de células do hospedeiro, especialmente fagócitos, e também por auxiliar as bactérias a escapar de vesículas no interior dos fagócitos (fagossomos) para o citoplasma da célula hospedeira.

As toxinas danificadoras de membrana que matam os leucócitos fagocíticos (glóbulos brancos) são chamadas de **leucocidinas** e agem pela formação de canais proteicos. As leucocidinas também são ativas contra os macrófagos, que são fagócitos presentes em tecidos. A maioria das leucocidinas é produzida por estafilococos e estreptococos. O dano causado aos fagócitos diminui a resistência do hospedeiro. As toxinas danificadoras de membrana que destroem os eritrócitos (glóbulos vermelhos), também pela formação de canais proteicos, são chamadas de **hemolisinas**. Os estafilococos e os estreptococos são importantes produtores de hemolisinas. As hemolisinas produzidas por estreptococos são chamadas de **estreptolisinas**. Um tipo em particular, denominado *estreptolisina* O (*SLO*), recebe esse nome por ser inativado na presença de oxigênio atmosférico. Outro tipo de estreptolisina é chamado de *estreptolisina S* (*SLS*), por ser estável em um ambiente contendo oxigênio.* Ambas as estreptolisinas podem causar a lise não apenas de eritrócitos, mas também de leucócitos (cuja função é eliminar os estreptococos) e de outras células do corpo.

Superantígenos. Os **superantígenos** são antígenos que provocam uma resposta imunológica muito intensa. Eles são proteínas bacterianas. Por uma série de interações com várias células do sistema imune, os superantígenos estimulam, de forma não específica, a proliferação de células imunológicas denominadas células T. Essas células são tipos de leucócitos (linfócitos) que agem contra organismos e tecidos estranhos (em transplantes, no último caso) e regulam a ativação e a proliferação de outras células do sistema imune. Em resposta aos superantígenos, as células T são estimuladas a liberar enormes quantidades de substâncias químicas denominadas citocinas. As citocinas são pequenas moléculas proteicas produzidas por várias células do corpo, em especial células T, que regulam as respostas imunológicas e medeiam a comunicação célula-célula (veja o Capítulo 17, página 492). Níveis excessivamente altos de citocinas liberadas pelas células T circulam pela corrente sanguínea e acabam por originar vários sintomas como febre, náusea, vômito, diarreia, às vezes choque e até mesmo a morte. Os superantígenos bacterianos incluem as toxinas estafilocócicas que causam a intoxicação alimentar e a síndrome do choque tóxico.

Exemplos de exotoxinas representativas. Em seguida, descreveremos brevemente algumas das exotoxinas mais notáveis (as antitoxinas serão discutidas mais adiante, no Capítulo 18).

Toxina diftérica. A bactéria *Corynebacterium diphtheriae* produz a *toxina diftérica* somente quando é infectada por um fago lisogênico que carreia o gene *tox*. Essa citotoxina inibe a síntese

* N. de T. O último S da sigla SLS (estreptolisina S) vem da palavra em inglês *stable*, que significa estável (na presença de oxigênio atmosférico).

proteica em células eucarióticas, e o faz pelo uso de um mecanismo do tipo toxina A-B, ilustrado na Figura 15.5.

Toxinas eritrogênicas. A bactéria *Streptococcus pyogenes* possui o material genético necessário para a síntese de três tipos de citotoxinas, designadas A, B e C. Essas *toxinas eritrogênicas* (*eritro* = vermelho, *gen* = produtor) são superantígenos que danificam a membrana citoplasmática de células dos capilares sanguíneos sob a pele, gerando um exantema caracterizado pela cor avermelhada. A febre escarlate, causada pela exotoxina do *S. pyogenes*, é assim chamada em razão dessa característica.

Toxina botulínica. A *toxina botulínica* é produzida pelo *Clostridium botulinum*. Embora a produção da toxina esteja associada à germinação de endosporos e ao crescimento de células vegetativas, uma quantia pequena da toxina aparece no meio até ser tardiamente liberada das células bacterianas por sua lise. A toxina botulínica é uma neurotoxina A-B que age nas junções neuromusculares (junções entre os nervos e as células musculares) e impede a transmissão de impulsos dos neurônios para o músculo. A toxina é capaz de realizar essa ação se ligando às células nervosas e inibindo a liberação de um neurotransmissor denominado acetilcolina. Como resultado, a toxina botulínica causa uma paralisia na qual o músculo perde seu tônus (paralisia flácida). O *C. botulinum* produz diversos tipos diferentes de toxinas botulínicas, e cada um possui efeitos diferentes.

Toxina tetânica. O *Clostridium tetani* produz a neurotoxina tetânica, também conhecida como *tetanospasmina*. Essa toxina A-B atinge o sistema nervoso central e se liga aos neurônios que controlam a contração de vários músculos esqueléticos. Essas células nervosas normalmente enviam impulsos inibitórios que impedem as contrações aleatórias e finalizam as contrações completas. A ligação da tetanospasmina bloqueia esta via de relaxamento muscular (veja o Capítulo 22, página 615). O resultado é a ocorrência de contrações musculares descontroladas, gerando os sintomas convulsivos (contrações espasmódicas) típicos do tétano.

Enterotoxina colérica. O *Vibrio cholerae* produz uma enterotoxina A-B denominada *toxina colérica*. A subunidade B da toxina se liga às células epiteliais, e a subunidade A faz com que as células secretem grandes quantidades de fluidos e eletrólitos (íons). As contrações musculares normais são prejudicadas, o que leva a diarreia intensa, podendo ser acompanhada de vômito. A *enterotoxina termolábil* (assim denominada por ser mais sensível ao calor que a maioria das toxinas), produzida por algumas cepas de *E. coli*, possui uma ação idêntica à da enterotoxina colérica.

Enterotoxina estafilocócica. O *Staphylococcus aureus* produz um superantígeno que afeta os intestinos de maneira similar à enterotoxina colérica. Uma determinada cepa de *S. aureus* também produz um superantígeno que resulta nos sintomas associados à síndrome do choque tóxico (veja o Capítulo 21, página 588). Um resumo das doenças produzidas por exotoxinas é apresentado na **Tabela 15.2**.

Endotoxinas

As **endotoxinas** diferem das exotoxinas de diversas formas. As endotoxinas são parte da porção externa da parede celular de bactérias gram-negativas (**Figura 15.4b**). Lembre-se do Capítulo 4 que as bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa que circunda a camada de peptideoglicana da parede celular. Esta membrana externa consiste em lipoproteínas, fosfolipídeos e lipopolissacarídeos (LPS) (veja a Figura 4.13c, página 86). A porção lipídica do LPS, chamada de **lipídeo A**, é a endotoxina. Assim, as endotoxinas são lipopolissacarídeos, enquanto as exotoxinas são proteínas.

As endotoxinas são liberadas quando as bactérias gram-negativas morrem e suas células sofrem lise, liberando a toxina (endotoxinas também podem ser liberadas durante a multiplicação bacteriana). Os antibióticos utilizados para tratar doenças causadas por bactérias gram-negativas podem lisar essas bactérias; essa reação causa a liberação de endotoxinas, o que pode levar a uma piora imediata dos sintomas. Entretanto, a condição do paciente normalmente melhora à medida que as endotoxinas vão sendo degradadas. As endotoxinas exercem seu efeito pelo estímulo de macrófagos, os quais, por sua vez, liberam citocinas em concentrações bastante elevadas. Nestas concentrações, as citocinas são tóxicas. Todas as endotoxinas produzem os mesmos sinais e sintomas, independentemente da espécie de micro-organismo, embora nem sempre na mesma intensidade. Esses sintomas incluem calafrios, febre, fraqueza, dores generalizadas e, em alguns casos, choque e até mesmo morte. As endotoxinas também podem induzir o aborto.

Uma outra consequência da presença de endotoxinas é a ativação das proteínas envolvidas na coagulação sanguínea, causando a formação de pequenos coágulos. Esses coágulos obstruem os vasos capilares, e o decréscimo no suprimento de sangue resultante induz a morte tecidual. Essa condição é conhecida como *coagulação intravascular disseminada* (*CID*).

Acredita-se que a febre (resposta pirogênica) causada pelas endotoxinas ocorra conforme ilustrado na **Figura 15.6**.

1. Bactérias gram-negativas são ingeridas por fagócitos.
2. À medida que as bactérias vão sendo degradadas nos vacúolos, o LPS das paredes celulares é liberado. Essas endotoxinas induzem os macrófagos a produzir uma citocinas denominada **interleucina 1** (**IL-1**), antigamente conhecida como *pirógeno endógeno*, e o ***fator de necrose tumoral alfa*** (**TNF-**α, de *tumor necrosis factor alpha*).
3. As citocinas são carreadas através do sangue até o hipotálamo, um centro de controle da temperatura no cérebro.
4. As citocinas induzem o hipotálamo a liberar lipídeos denominados prostaglandinas, que, por sua vez, alteram o termostato existente no hipotálamo para temperaturas mais altas. O resultado é a febre.

A morte de células bacterianas causada pela lise ou por antibióticos também pode resultar em febre por esse mesmo mecanismo. A aspirina e o acetaminofeno reduzem a febre pela inibição da síntese de prostaglandinas (a função da febre no corpo é discutida no Capítulo 16, página 463).

O termo **choque** se refere a qualquer decréscimo da pressão sanguínea com risco à vida. O choque causado pela presença de bactérias é chamado de **choque séptico**. Bactérias gram-negativas causam *choque endotóxico*. Assim como a febre, o choque produzido pelas endotoxinas está relacionado à secreção de citocinas pelos macrófagos. A fagocitose de bactérias gram-negativas faz com que os fagócitos secretem o fator de necrose tumoral (TNF), eventual-

Tabela 15.2 Doenças causadas por exotoxinas

Doença	Bactéria	Tipo de exotoxina	Mecanismo
Botulismo	*Clostridium botulinum*	A-B	A neurotoxina impede a transmissão de impulsos nervosos resultando em paralisia flácida.
Tétano	*Clostridium tetani*	A-B	A neurotoxina bloqueia os impulsos nervosos da via de relaxamento muscular, resultando em contrações descontroladas dos músculos.
Difteria	*Corynebacterium diphtheriae*	A-B	A citotoxina inibe a síntese proteica, especialmente em células nervosas, cardíacas e renais.
Síndrome da pele escaldada	*Staphylococcus aureus*	A-B	Uma exotoxina causa a separação das camadas da pele, que se soltam (pele escaldada).
Cólera	*Vibrio cholerae*	A-B	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia.
Diarreia do viajante	*Escherichia coli* enterotoxigênica e *Shigella* spp.	A-B	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia.
Antraz	*Bacillus anthracis*	A-B	Dois componentes A entram na célula pelo componente B. As proteínas A induzem choque e diminuem as respostas imunológicas do hospedeiro.
Gangrena gasosa e intoxicação alimentar	*Clostridium perfringens* e outras espécies de *Clostridium*	Toxina danificadora de membrana	Uma exotoxina (citotoxina) causa destruição maciça de eritrócitos (hemólise); outra exotoxina (enterotoxina) está relacionada à intoxicação alimentar, que resulta em diarreia.
Diarreia associada a antibióticos	*Clostridium difficile*	Toxina danificadora de membrana	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia; a citotoxina resulta em desorganização do citoesqueleto das células do hospedeiro.
Intoxicação alimentar	*Staphylococcus aureus*	Superantígeno	A enterotoxina causa a secreção de grandes quantidades de fluidos e eletrólitos, resultando em diarreia.
Síndrome do choque tóxico (SCT)	*Staphylococcus aureus*	Superantígeno	A toxina causa secreção de fluidos e eletrólitos de vasos capilares, resultando em diminuição do volume sanguíneo e queda da pressão arterial.

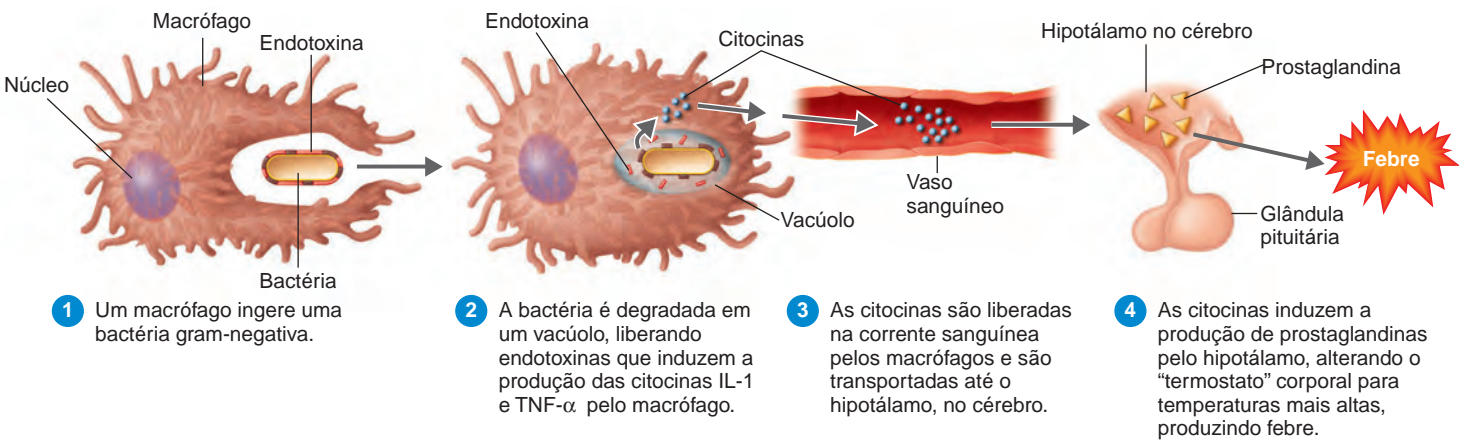
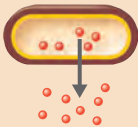
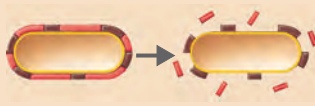



Figura 15.6 Endotoxinas e a resposta pirogênica. O mecanismo proposto pelo qual as endotoxinas causam febre.

P O que é uma endotoxina?

Tabela 15.3 Exotoxinas e endotoxinas

Propriedade	Exotoxinas	Endotoxinas
Fonte bacteriana	Principalmente bactérias gram-positivas	Bactérias gram-negativas
Relação com o micro-organismo	Produto metabólico de células em crescimento	Presentes em LPS da membrana externa da parede celular e liberadas com a destruição da célula ou durante a divisão celular
Propriedade química	Proteínas, normalmente compostas de duas partes (A-B)	Porção lipídica (lipídeo A) do LPS da membrana externa (lipopolissacarídeo)
Farmacologia (efeito no organismo)	Específica para uma estrutura ou função celular particular no hospedeiro (afeta principalmente funções celulares, neurônios e trato gastrintestinal)	Geral, causando febre, fraqueza, dores e choque; todas produzem os mesmos efeitos
Estabilidade ao calor	Instável; normalmente podem ser destruídas em 60 a 80°C (exceto a enterotoxina estafilocócica)	Estável; podem suportar autoclave (121°C por uma hora)
Toxicidade (habilidade de causar doença)	Alta	Baixa
Geração de febre	Não	Sim
Imunologia (em relação aos anticorpos)	Podem ser convertidas em toxoides para imunização contra a toxina; neutralizadas por antitoxinas	Não são facilmente neutralizadas por antitoxinas; toxoides não podem ser produzidos para imunizar contra as toxinas
Dose letal	Pequena	Consideravelmente maior
Doenças representativas	Gangrena gasosa, tétano, botulismo, difteria, febre escarlatina	Febre tifoide, infecções do trato urinário e meningite meningocócica

mente chamado de *caquetina*. O TNF se liga às células de muitos tecidos no corpo e altera seus metabolismos de diversas formas. Um dos efeitos do TNF é o dano aos capilares sanguíneos; sua permeabilidade é aumentada, e eles acabam por perder grandes quantidades de fluidos. O resultado é uma queda na pressão sanguínea que leva ao choque. A pressão arterial baixa causa sérios efeitos nos rins, nos pulmões e no trato gastrintestinal. Além disso, a presença de bactérias gram-negativas, como o *Haemophilus influenzae* do tipo b, no fluido cerebrospinal causa a liberação de IL-1 e TNF. Essas citocinas, por sua vez, geram o enfraquecimento da barreira hematoencefálica que normalmente protege o sistema nervoso central de infecções. A barreira enfraquecida permite a entrada de mais fagócitos, mas também deixa que mais bactérias penetrem a região, vindas da corrente sanguínea. Nos Estados Unidos, 750.000 casos de choque séptico ocorrem todos os anos. Um terço dos pacientes morre em um mês, e quase a metade morre em seis meses.

As endotoxinas não promovem a formação de antitoxinas efetivas contra seu componente carboidrato. Anticorpos são produzidos, porém tendem a não controlar os efeitos da toxina; na verdade, em algumas circunstâncias, esses anticorpos podem até mesmo intensificar seu efeito.

Os micro-organismos representativos que produzem endotoxinas incluem *Salmonella typhi* (o agente causador da febre tifoide), *Proteus* spp. (frequentemente envolvido em infecções urinárias) e *Neisseria meningitidis* (o agente causador da meningite meningocócica).

É importante dispor de testes sensíveis que possam identificar a presença de endotoxinas em drogas, instrumentos médicos e fluidos corporais. Materiais esterilizados ainda podem conter endotoxinas, embora nenhuma bactéria viva possa ser cultivada a partir deles. Um exemplo é discutido no quadro da página 440. Um dos testes laboratoriais utilizados é o chamado teste do **lisado de amebócitos *Limulus* (LAL)**, que consegue detectar quantidades mínimas de endotoxinas. A hemolinfa (sangue) do caranguejo-ferradura do Atlântico, *Limulus polyphemus*, contém glóbulos brancos chamados de amebócitos, que possuem uma grande quantidade de proteínas (lisado) que causam coagulação. Na presença de endotoxinas, os amebócitos da hemolinfa do caranguejo sofrem lise e liberam suas proteínas coagulantes. O coágulo gelatinoso resultante (precipitado) representa um teste positivo para a presença de endotoxinas. A intensidade da reação é medida pelo uso de um espectrofotômetro (veja a Figura 6.21, página 179).

A Tabela 15.3 compara exotoxinas e endotoxinas.

Plasmídeos, lisogenia e patogenicidade

Lembre-se dos Capítulos 4 (página 95) e 8 (página 237) que os plamídeos são moléculas de DNA pequenas e circulares que não estão conectadas ao cromossomo bacteriano principal, sendo capazes de se replicar independentemente. Um grupo de plasmí-

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Inflamações oculares

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os profissionais responsáveis pelo controle de infecções se perguntam quando tentam descobrir a fonte de uma infecção. Tente responder cada questão antes de passar à seguinte.

1. No dia 11 de outubro, um oftalmologista realizou uma cirurgia de catarata em dez pacientes (**Figura A**). Mais tarde naquele dia, ele notou que oito dos dez pacientes apresentavam um grau de inflamação ocular anormal e que suas pupilas estavam fixas, não respondendo a estímulos luminosos. Substituições de lentes foram realizadas no olho esquerdo de cinco pacientes e no olho direito de três deles.
   O que você pode concluir?
2. As infecções demoram 3 a 4 dias para apresentar sintomas. O surgimento de sintomas no mesmo dia do procedimento sugere uma reação a uma toxina ou outra substância química denominada síndrome tóxica do segmento anterior (STSA). A STSA é causada por (1) substâncias químicas em instrumentos cirúrgicos, resultante de limpeza insuficiente ou imprópria; (2) produtos introduzidos no olho durante a cirurgia, como soluções de lavagem ou medicamentos; ou (3) outra substância que entra no olho durante ou após a cirurgia, como pomadas tópicas ou talco das luvas cirúrgicas.
   O que você precisa saber agora?
3. A epinefrina usada durante a cirurgia e a solução enzimática do banho ultrassônico utilizado para limpar os instrumentos cirúrgicos estavam estéreis. Medicamentos pertencentes a diferentes lotes de fabricação foram usados em cada caso. O cirurgião é certificado e tem mais de 20 anos de experiência. A autoclave usada para esterilizar o equipamento estava funcionando normalmente. Antissépticos com base em iodo, de uso único, foram utilizados, e ponteiras novas e estéreis para a extração da córnea foram usadas em cada paciente.
   Qual é o próximo passo?
4. Um ensaio de LAL foi realizado a partir da solução do banho ultrassônico e o teste foi positivo.
   O que isso indica?
5. Endotoxinas estavam presentes na solução do banho ultrassônico.
   Qual é a fonte da endotoxina? Essa condição deve ser tratada com antibióticos?
6. Bactérias gram-negativas como *Burkholderia* comumente são achadas em reservatórios líquidos e ambientes úmidos. Bactérias gram-negativas podem colonizar tubulações de água e recipientes laboratoriais usados para armazenar água (**Figura B**). Bactérias provenientes desses biofilmes poderiam ter contaminado as soluções. Ao serem mortas pela autoclave, as bactérias liberam endotoxinas. A maioria dos pacientes se recuperou bem após tratamento com drogas anti-inflamatórias tópicas, como prendisona. Neste caso, antibióticos não devem ser usados, uma vez que a STSA não é uma infecção.

   A cirurgia de catarata é uma das mais comuns nos Estados Unidos, com cerca de dois milhões de procedimentos realizados a cada ano. Um surto nacional de STSA, em 2005, foi atribuído a uma solução de irrigação comercialmente distribuída que estava contaminada com endotoxinas. A prevenção da STSA depende principalmente da utilização apropriada de protocolos de limpeza e esterilização de instrumentos cirúrgicos, e também da devida atenção a todas as soluções, medicamentos e aparelhos usados nas cirurgias.

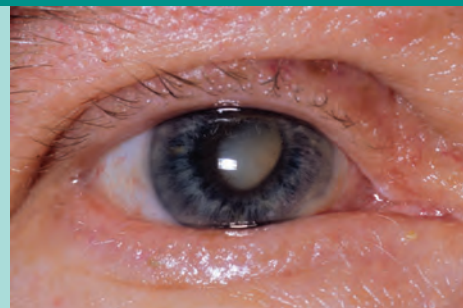



Figura A Catarata.

Fonte: Adaptado do *MMWR* 56(25): 629-930, 28 de Junho de 2007.

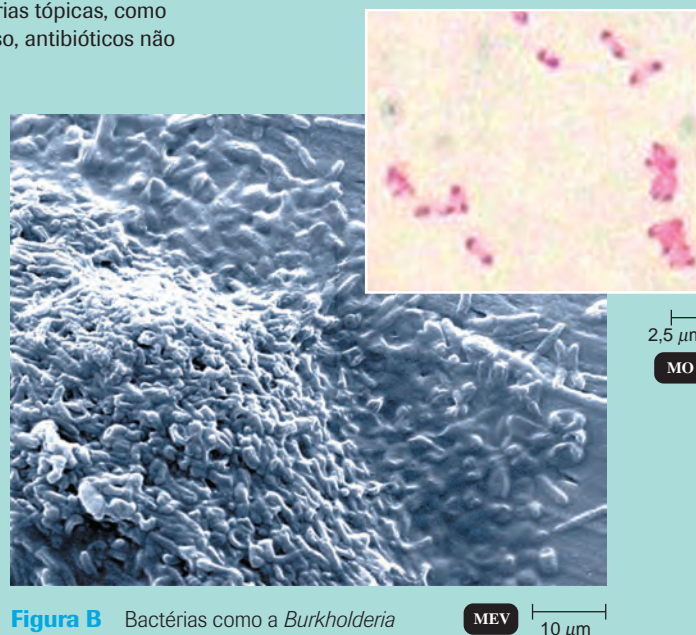



Figura B Bactérias como a *Burkholderia* formam biofilmes em tubulações de água e recipientes de armazenamento. Em destaque: *Burkholderia* coradas pelo método de Gram, mostrando coloração bipolar típica.

deos, denominados fatores R (de resistência), é responsável pela resistência de alguns micro-organismos aos antibióticos. Além disso, um plasmídeo pode transportar informações que determinam a patogenicidade de um micróbio. Exemplos de fatores de virulência codificados por genes plasmidiais incluem a neurotoxina tetânica, a enterotoxina termolábil e a enterotoxina estafilocócica. Outros exemplos são a dextrana-sacarase (uma enzima produzida pelo *Streptococcus mutans* que está envolvida na cárie dentária), as adesinas e a coagulase produzidas pelo *Staphylococcus aureus* e um tipo de fímbria específica de cepas enteropatogênicas de *E. coli*.

No Capítulo 13, vimos que alguns bacteriófagos (vírus que infectam bactérias) podem incorporar seu DNA ao cromossomo bacteriano, se tornando um profago e permanecendo em estado latente (não causando a lise da bactéria). Esse estado é chamado de *lisogenia* e as células contendo um profago são chamadas de lisogênicas. Um dos efeitos da lisogenia é que a célula bacteriana e sua progênie podem apresentar novas propriedades codificadas pelo DNA do bacteriófago. Essa mudança nas características de um micróbio em razão da presença do profago é denominada **conversão lisogênica**. Como resultado da conversão, a célula bacteriana passa ser imune a novas infecções pelo mesmo tipo de bacteriófago. Além disso, as células lisogênicas apresentam importância médica, pois algumas patogêneses bacterianas são causadas pelos profagos que as bactérias contêm.

Entre os genes de bacteriófagos que contribuem para a patogenicidade estão os genes que codificam a toxina diftérica, a toxina eritrogênica, a enterotoxina estafilocócica, a toxina pirogênica, a neurotoxina botulínica e a cápsula produzida pelo *Mycobacterium pneumoniae*. O gene para a toxina Shiga, na *E. coli* O157, também é codificado por um profago. Cepas patogênicas de *Vibrio cholerae* carreiam fagos lisogênicos. Esses fagos podem transmitir o gene da toxina colérica para cepas não patogênicas de *V. cholerae*, aumentando o número de bactérias patogênicas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Qual a importância dos sideróforos? **15-8**
- ✓ Como a toxicidade se diferencia do dano direto? **15-9**
- ✓ Diferencie uma exotoxina de uma endotoxina. **15-10**
- ✓ A intoxicação alimentar pode ser dividida em duas categorias: infecção alimentar e intoxicação alimentar propriamente dita. Com base na produção de toxinas pelas bactérias, explique as diferenças entre as duas categorias. **15-11**
- ✓ Soluções de lavagem contendo *Pseudomonas* foram esterilizadas e usadas para lavar cateteres cardíacos. Após cateterização, três pacientes desenvolveram febre, calafrios e hipotensão. Tanto a solução como os cateteres estavam estéreis. Por que os pacientes apresentaram essas reações? Como a solução deveria ter sido testada? **15-12**
- ✓ Como a lisogenia pode transformar uma *E. coli* inofensiva em um patógeno? **15-13**

Propriedades patogênicas dos vírus

OBJETIVO DO APRENDIZADO

15-14 Listar nove efeitos citopáticos das infecções virais.

As propriedades patogênicas dos vírus dependem do acesso a um hospedeiro, evadindo suas defesas e então causando lesão ou morte à célula do hospedeiro, enquanto se reproduzem.

Mecanismos virais para evasão das defesas do hospedeiro

Os vírus apresentam uma variedade de mecanismos que permitem a eles escapar de serem destruídos pela resposta imune do hospedeiro (veja o Capítulo 17, página 487). Como exemplo, os vírus podem penetrar e crescer dentro das células do hospedeiro, onde os componentes do sistema imune não podem alcançá-los. Os vírus obtêm acesso ao interior das células por possuírem sítios de ligação a receptores presentes em suas células-alvo. Quando seu sítio de ligação se aproxima do receptor apropriado, o vírus pode se ligar à célula e penetrar nela. Alguns vírus ganham acesso às células porque seus sítios de ligação mimetizam substâncias úteis a elas. Por exemplo, o sítio de ligação do vírus da raiva mimetiza o neurotransmissor acetilcolina. Como resultado, o vírus pode entrar na célula hospedeira juntamente com o neurotransmissor.

O vírus da Aids (HIV) apresenta estratégias ainda mais importantes, escondendo seus sítios de ligação da resposta imune e atacando diretamente os componentes do sistema imune. Como a maioria dos vírus, o HIV é célula-específico, ou seja, infecta apenas determinadas células do organismo. O HIV ataca somente aquelas células que apresentam um tipo de marcador de superfície denominado proteína CD4, sendo que a maioria delas é de células do sistema imune chamadas de células T (linfócitos T). Os sítios de ligação do HIV são complementares à proteína CD4. A superfície do vírus é coberta de dobras, que formam sulcos e vales, e os sítios de ligação do HIV estão localizados no fundo desses sulcos. As proteínas CD4 são afiladas e compridas o suficiente para alcançar esses sítios de ligação, enquanto as moléculas de anticorpos produzidas contra o HIV são muito grandes para fazerem contato com os sítios. Como resultado, é difícil para estes anticorpos destruírem o HIV.

Efeitos citopáticos dos vírus

A infecção de uma célula hospedeira por um vírus animal normalmente leva a célula à morte (veja o Capítulo 13, página 378). A morte pode ser causada pelo acúmulo de uma grande quantidade de vírus em multiplicação, pelos efeitos de proteínas virais na permeabilidade da membrana plasmática da célula hospedeira, ou pela inibição da síntese de DNA, RNA ou proteínas celulares. Os efeitos visíveis da infecção viral são conhecidos como **efeitos citopáticos** (**ECPs**). Aqueles efeitos citopáticos que resultam na morte celular são chamados de *efeitos citocidas,* e aqueles que resultam em dano celular sem que ocorra morte são chamados de *efeitos não citocidas*. Os ECPs são usados para o diagnóstico de muitas infecções virais.

Os ECPs variam de acordo com os vírus. Uma das diferenças é o ponto no ciclo da infecção viral em que o efeito ocorre. Algumas infecções virais resultam em mudanças precoces na célula hospedeira; em outras infecções, essas mudanças não são visualizadas até estágios bem mais tardios. Um vírus pode produzir um ou mais dos seguintes ECPs:

1. Em algum estágio durante sua multiplicação, os vírus citocidas interrompem a síntese de macromoléculas dentro da célula hospedeira. Alguns vírus, como o *Herpes simplex virus*, bloqueiam irreversivelmente a mitose.
2. Quando um vírus citocida infecta uma célula, ele faz com que os lisossomos celulares liberem seu conteúdo enzimático, resultando na destruição de componentes intracelulares e na morte da célula.
3. **Corpúsculos de inclusão** são grânulos encontrados no citoplasma ou no núcleo de algumas células infectadas (**Figura 15.7a**). Esses grânulos são, muitas vezes, partes virais – ácidos nucleicos ou proteínas – que estão sendo montadas para for-

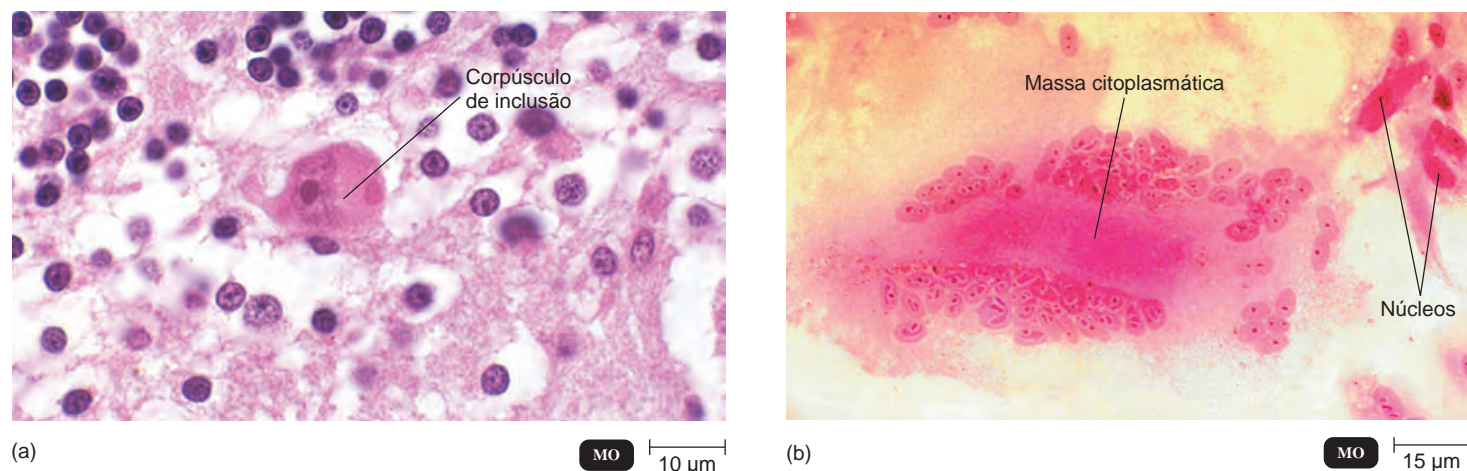



Figura 15.7 Alguns efeitos citopáticos dos vírus. (a) Corpúsculo de inclusão citoplasmático no tecido cerebral de uma pessoa que morreu de raiva. **(b)** Porção de um sincício (célula gigante) formado em células infectadas pelo vírus do sarampo. A massa citoplasmática provavelmente seja formada pelos complexos de Golgi das células fusionadas.

P O que são efeitos citopáticos?

mar os vírions. Esses grânulos variam em tamanho, forma e propriedades de coloração, de acordo com o vírus. Os corpúsculos de inclusão são caracterizados por sua capacidade de se corar por corantes ácidos (acidófilos) ou básicos (basófilos). Outros corpúsculos de inclusão surgem nos sítios de síntese viral anterior, mas não contêm vírus prontos ou seus componentes. Os corpúsculos de inclusão são importantes porque sua presença pode auxiliar na identificação do vírus que está causando uma infecção. Por exemplo, o vírus da raiva produz, na maioria dos casos, corpúsculos de inclusão (corpúsculos de Negri) no citoplasma de células nervosas, e sua presença no tecido cerebral de um animal suspeito de estar raivoso tem sido usada como ferramenta diagnóstica para a identificação da doença. Corpúsculos de inclusão diagnósticos também estão associados ao vírus do sarampo, vacínia, varicela, herpes e adenovírus.

4. Eventualmente, várias células infectadas adjacentes se fundem para formar uma célula multinuclear muito grande, denominada **sincício** (Figura 15.7b). Essas células gigantes são produzidas a partir da infecção por vários vírus que causam doenças, como os vírus do sarampo, da caxumba e do resfriado comum.
5. Algumas infecções virais resultam em mudanças nas funções da célula hospedeira, sem mudanças visíveis nas células infectadas. Por exemplo, quando o vírus que causa o sarampo se liga a seu receptor celular, denominado CD46, a ligação impele a célula a reduzir a produção de uma substância chamada de IL-12, o que reduz a habilidade do hospedeiro de combater a infecção. Veja o quadro no Capítulo 17, página 493.
6. Algumas células infectadas por vírus produzem substâncias chamadas de **interferons**. A infecção viral induz a célula a sintetizar interferon, mas a proteína é codificada pelo DNA celular. O fenômeno protege as células vizinhas, não infectadas, da infecção viral (interferons serão discutidos mais adiante, no Capítulo 16, página 468).
7. Muitas infecções virais induzem mudanças antigênicas na superfície das células infectadas. Essas mudanças geram uma resposta de anticorpos do hospedeiro contra as células infectadas e marcam as células para destruição pelo sistema imune do hospedeiro.
8. Alguns vírus induzem mudanças cromossômicas na célula hospedeira. Algumas infecções virais, por exemplo, resultam em danos nos cromossomos celulares, principalmente a ruptura desses cromossomos. Com frequência, os oncogenes (genes causadores de câncer) podem ser estimulados ou ativados por vírus.
9. A maioria das células normais para de crescer *in vitro* quando se aproxima de outras células, um fenômeno conhecido como **inibição de contato**. Vírus capazes de causar câncer *transformam* as células do hospedeiro, conforme discutido no Capítulo 13. A transformação resulta em células anormais, fusiformes, que não reconhecem a inibição de contato (Figura 15.8). A perda da inibição de contato resulta no crescimento celular descontrolado.

Alguns vírus representativos que causam ECPs são apresentados na Tabela 15.4. Na Parte Quatro deste livro discutiremos as propriedades patológicas dos vírus em mais detalhe.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Defina *efeito citopático* e dê cinco exemplos. **15-14**

Propriedades patogênicas de fungos, protozoários, helmintos e algas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

15-15 Discutir as causas dos sintomas de doenças causadas por fungos, protozoários, helmintos e algas.

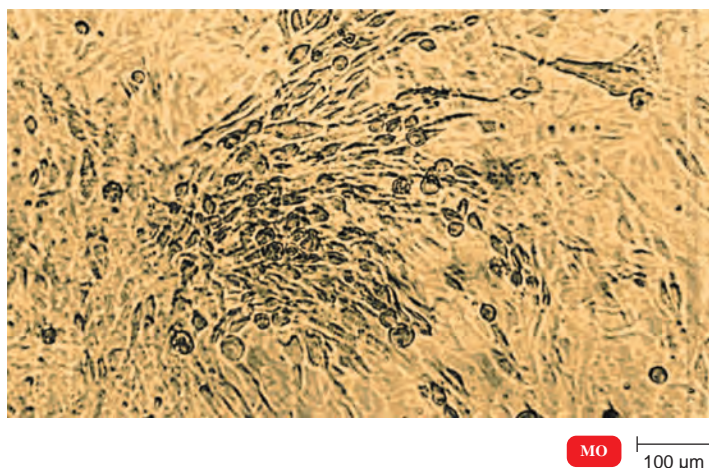



Figura 15.8 **Células transformadas em cultura.** No centro desta microfotografia há um agrupamento de células de embrião de galinha transformadas pelo vírus do sarcoma de Rous. Esse agrupamento resulta da multiplicação de uma única célula infectada pelo vírus transformante. Note como as células transformadas têm aparência escura, em contrate com a monocamada de células claras, achatadas e normais a sua volta. Essa aparência é causada por sua forma fusiforme e seu crescimento ilimitado, pela ausência de inibição de contato.

P **O que é inibição de contato?**

Esta seção descreve alguns efeitos patológicos gerais de doenças causadas por fungos, protozoários, helmintos e algas em humanos. As doenças mais específicas causadas por esses organismos, junto com suas propriedades patológicas, serão discutidas em detalhe nos Capítulos 21 a 26.

Fungos

Embora os fungos causem doenças, eles não possuem um conjunto de fatores de virulência bem definido. Alguns fungos possuem produtos metabólicos que são tóxicos ao hospedeiro humano. Nesses casos, entretanto, a toxina é apenas uma causa indireta da doença, uma vez que o fungo já está crescendo no hospedeiro ou sobre ele. Infecções fúngicas crônicas, como o crescimento de mofo em residências, provocam respostas alérgicas no hospedeiro.

Tricotecenos são toxinas fúngicas que inibem a síntese proteica em células eucarióticas. A ingestão dessas toxinas causa dores de cabeça, calafrios, náuseas fortes, vômito e distúrbios visuais. Essas toxinas são produzidas pelos fungos *Fusarium* e *Stachybotrys*, que crescem em grãos e em placas de madeira usadas na construção de casas.

Existem evidências de que alguns fungos possuem fatores de virulência. Dois fungos que causam infecções de pele, a *Candida albicans* e o *Trichophyton*, secretam proteases. Essas enzimas podem modificar as membranas celulares do hospedeiro, permitindo a aderência do fungo. O *Cryptococcus neoformans* é um fungo que causa um tipo de meningite; ele produz uma cápsula que o auxilia na resistência à fagocitose. Alguns fungos se tornaram resistentes a drogas antifúngicas ao reduzirem a síntese de receptores para elas.

Tabela 15.4 **Efeitos citopáticos de alguns vírus selecionados**

Vírus (gênero)	Efeito citopático
Poliovírus (*Enterovirus*)	Citocida (morte celular)
Papovavírus (Família *Papovaviridae*)	Corpúsculos de inclusão acidófilos no núcleo
Adenovírus (*Mastadenovirus*)	Corpúsculos de inclusão basófilos no núcleo
Rabdovírus (Família *Rhabdoviridae*)	Corpúsculos de inclusão acidófilos no citoplasma
Citomegalovírus	Corpúsculos de inclusão acidófilos no núcleo e no citoplasma
Vírus do sarampo (*Morbillivirus*)	Fusão celular
Polionavírus	Transformação
HIV (*Lentivirus*)	Destruição de células T

A doença denominada ergotismo, muito comum na Europa durante o período medieval, é causada por uma toxina produzida por um fungo ascomiceto patógeno de plantas, o *Claviceps purpurea*, que cresce em grãos e sementes. A toxina fica contida em um **esclerócio**, porção altamente resistente do micélio do fungo e que pode ser destacada. A toxina em si, o **ergot**, é um alcaloide capaz de causar alucinações que lembram as produzidas pelo consumo de LSD (ácido lisérgico dietilamida, de *lymese acid diethylamide*). De fato, o ergot é uma fonte natural de LSD. O ergot também causa a constrição dos vasos capilares e pode causar gangrena nos membros ao impedir a circulação apropriada do sangue no corpo. Embora o *C. purpurea* ainda cresça ocasionalmente em culturas de grãos, as técnicas modernas de colheita normalmente removem os esclerócios.

Diversas outras toxinas são produzidas por fungos que crescem em grãos e outras plantas. Produtos originados do amendoim, por exemplo, ocasionalmente são recolhidos devido à presença de quantidades excessivas da **aflatoxina**, uma toxina que apresenta propriedades carcinogênicas. A aflatoxina é produzida durante o crescimento do fungo *Aspergillus flavus*. Quando ingerida, ela pode ser alterada no corpo humano em um composto mutagênico.

Alguns cogumelos produzem toxinas denominadas **micotoxinas** (toxinas produzidas por fungos). Exemplos são a **faloidina** e a **amanitina**, produzidas pela *Amanita phalloides*, cogumelo comumente conhecido como cicuta verde. Estas neurotoxinas são tão potentes que a ingestão de um cogumelo do gênero *Amanita* pode resultar em morte.

Protozoários

A presença de protozoários e seus dejetos e subprodutos frequentemente gera sintomas de doença no hospedeiro (veja a Tabela 12.5, página 354). Alguns protozoários, como o *Plasmodium*, o agente causador da malária, invadem as células do hospedeiro e se reproduzem em seu interior, causando sua ruptura. O *Toxoplasma*

se liga aos macrófagos e entra na célula por fagocitose. O parasita é capaz de impedir a acidificação normal dos vacúolos fagocíticos e a digestão, o que permite seu crescimento dentro deles. Outros protozoários, como a *Giardia lamblia*, o agente causador da giardíase, se aderem às células do hospedeiro por discos de sucção (veja a Figura 25.17, página 730), digerindo as células e os fluidos teciduais.

Alguns protozoários podem se evadir das defesas do hospedeiro e causar doença por intervalos de tempo bastante longos. Por exemplo, a *Giardia*, que causa diarreia, e o *Trypanosoma*, que causa a tripanossomíase africana (doença do sono), usam a variação antigênica (página 433) para permanecerem sempre à frente na corrida contra o sistema imune do hospedeiro. O sistema imune está constantemente alerta para reconhecer substâncias estranhas chamadas de antígenos. A presença de antígenos faz com que o sistema imune produza anticorpos para destruí-los (veja o Capítulo 17). Quando o *Trypanosoma* é inserido na corrente sanguínea por uma mosca tsé-tsé, ele produz e apresenta um antígeno específico. Em resposta, o organismo produz anticorpos contra aquele antígeno. Entretanto, dentro de duas semanas, o micróbio para de apresentar o antígeno original e passa a produzir e apresentar um diferente (veja a Figura 22.16, página 629). Assim, os anticorpos originais não são mais efetivos. Uma vez que o micróbio pode produzir até mil antígenos diferentes, essa infecção pode durar décadas.

Helmintos

A presença de helmintos também gera, com frequência, sintomas de doença no hospedeiro (veja a Tabela 12.6, página 361). Alguns desses organismos consomem tecidos do hospedeiro para seu próprio crescimento ou produzem grandes massas de parasitas. Em ambos os casos, o dano celular resultante evoca os sintomas. Um exemplo é o verme *Wuchereria bancrofti*, o agente causador da elefantíase. Esse parasita bloqueia a circulação linfática, levando a um acúmulo de linfa, eventualmente causando inchaços grotescos nas pernas ou outras partes do corpo. Dejetos oriundos do metabolismo desses parasitas também podem contribuir para a geração dos sintomas da doença.

Algas

Algumas espécies de algas produzem neurotoxinas. Por exemplo, alguns gêneros de dinoflagelados, como o *Alexandrium*, são importantes do ponto de vista médico por produzirem uma neurotoxina chamada de **saxitonina**. Embora os moluscos que se alimentam dos dinoflagelados produtores de saxitonina não apresentem sinais de doença, as pessoas que comem os moluscos podem desenvolver intoxicação paralítica por marisco, com sintomas similares aos do botulismo. Agências de saúde pública frequentemente proíbem o consumo de mariscos durante as marés vermelhas (veja a Figura 27.13, página 779).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Identifique os fatores de virulência que contribuem para a patogenicidade de doenças causadas por cada um dos seguintes organismos: fungos, protozoários, helmintos e algas. **15-15**

Portas de saída

OBJETIVO DO APRENDIZADO

15-16 Diferenciar portas de entrada e portas de saída.

No início do capítulo você aprendeu como os micróbios entram no organismo por vias preferenciais ou portas de entrada. Os micróbios também deixam o organismo por vias específicas denominadas **portas de saída**, em secreções, excreções, descargas ou tecidos que descamam. Em geral, as portas de saída estão relacionadas com a parte do corpo que foi infectada. Assim, geralmente o micro-organismo utiliza a mesma porta para entrada e saída. Ao utilizar várias portas de saída, os patógenos podem se disseminar entre uma população se movendo de um hospedeiro suscetível a outro. Como mostrado no Capítulo 14, esse tipo de informação sobre a disseminação de uma doença é muito importante para os epidemiologistas.

As portas de saída mais comuns são os tratos gastrintestinal e respiratório. Por exemplo, muitos patógenos que vivem no trato respiratório saem do organismo por descargas nasais e bucais. Essas descargas são expelidas durante a tosse ou o espirro, e os micro-organismos são encontrados em gotículas formadas por muco. Os patógenos que causam tuberculose, coqueluche, pneumonias, febre escarlatina, meningitina meningocócica, varicela, sarampo, varíola e influenza são eliminados pela via respiratória. Outros patógenos saem pela via gastrintestinal, nas fezes ou na saliva. As fezes podem estar contaminadas com patógenos associados a salmonelose, cólera, febre tifoide, shigelose, disenteria amebiana e poliomielite. A saliva também pode conter patógenos como os que causam a raiva, a caxumba e a mononuclose infecciosa.

Outra importante via de saída é o trato geniturinário. Micróbios responsáveis por doenças sexualmente transmissíveis são encontrados em secreções provenientes do pênis e da vagina. A urina pode conter os patógenos responsáveis pela febre tifoide e pela brucelose, que podem deixar o corpo pelo trato urinário. A pele ou ferimentos podem representar outra porta de saída. Infecções transmitidas pela pele incluem bouba, impetigo, tíneas, herpes simples e verrugas. Drenos em ferimentos podem disseminar infecções para outra pessoa diretamente ou pelo contato com um fômite contaminado. O sangue infectado pode ser removido e então reinjetado em outra pessoa por picadas de insetos ou agulhas e seringas contaminadas, disseminando doenças pela população. Exemplos de doenças transmitidas por picada de insetos incluem a febre amarela, a peste bubônica, a tularemia e a malária. A Aids e a hepatite B podem ser transmitidas por seringas e agulhas contaminadas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são as portas de saída mais frequentemente usadas? **15-16**

* * *

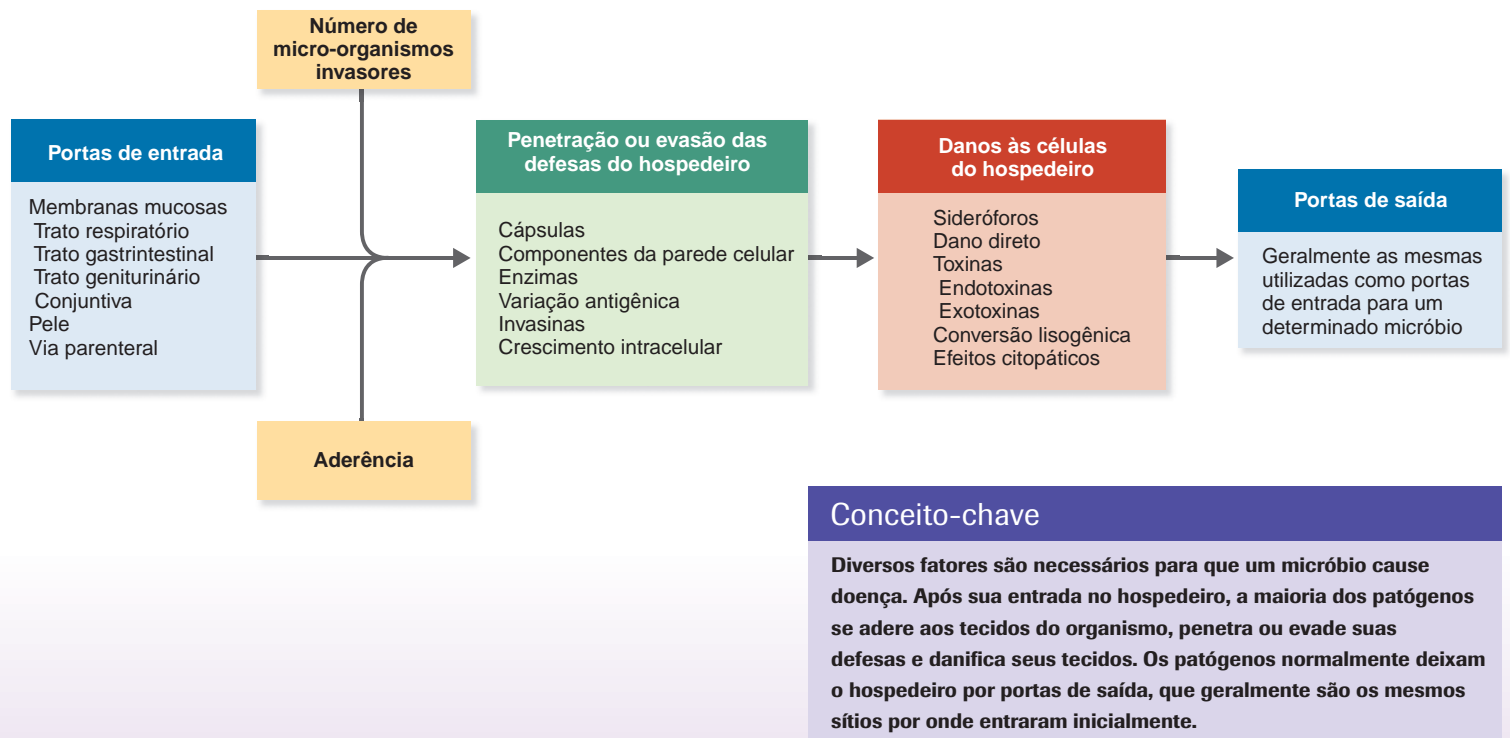
No próximo capítulo, examinaremos um grupo de defesas não específicas do hospedeiro contra doenças. Porém, antes de prosseguir, examine a **Figura 15.9** cuidadosamente. Ela resume alguns dos conceitos-chave dos mecanismos microbianos de patogenicidade que discutimos neste capítulo.

Figura 15.9

FIGURA FUNDAMENTAL Mecanismos microbianos de patogenicidade

Quando o equilíbrio entre hospedeiro e micróbio está a favor do micróbio, ocorre infecção ou doença. Conhecer estes mecanismos de patogenicidade microbiana é fundamental para se compreender como patógenos específicos, discutidos na Parte Quatro deste livro, são capazes de suplantar as defesas do hospedeiro.

Conceito-chave

Diversos fatores são necessários para que um micróbio cause doença. Após sua entrada no hospedeiro, a maioria dos patógenos se adere aos tecidos do organismo, penetra ou evade suas defesas e danifica seus tecidos. Os patógenos normalmente deixam o hospedeiro por portas de saída, que geralmente são os mesmos sítios por onde entraram inicialmente.

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 428)

1. Patogenicidade é a capacidade de um patógeno de produzir uma doença suplantando as defesas do hospedeiro.
2. Virulência é o grau de patogenicidade.

Como os micro-organismos infectam o hospedeiro (p. 429-432)

1. A via específica pela qual um patógeno em particular tem acesso ao corpo é chamada de porta de entrada.

Portas de entrada (p. 429)

2. Muitos micro-organismos podem penetrar as membranas mucosas da conjuntiva e dos tratos respiratório, gastrintestinal e geniturinário.
3. A maioria dos micróbios não pode penetrar a pele intacta; eles penetram através de folículos pilosos e ductos sudoríparos.
4. Alguns micro-organismos têm acesso aos tecidos por inoculação através da pele e das membranas mucosas via picadas de insetos, injeções e outros ferimentos. Essa via de penetração é chamada de via parenteral.

As portas de entrada preferenciais (p. 429)

5. Muitos micro-organismos causam doença somente quando entram no corpo através de suas portas de entrada específicas.

Números de micro-organismos invasores (p. 429-431)

6. A virulência pode ser expressa em DL_{50} (dose letal para 50% dos hospedeiros inoculados) ou DI_{50} (dose infecciosa para 50% dos hospedeiros inoculados).

Aderência (p. 431, 432)

7. Projeções na superfície de um patógeno, chamadas de adesinas (ligantes), se aderem a receptores complementares nas células do hospedeiro.
8. As adesinas podem ser glicoproteínas ou lipoproteínas e frequentemente estão associadas às fímbrias.
9. A manose é o receptor mais comum.
10. Os biofilmes podem fornecer aderência e resistência aos agentes microbianos.

Como os patógenos bacterianos ultrapassam as defesas do hospedeiro (p. 432-433)

Cápsulas (p. 432)

1. Alguns patógenos possuem cápsulas que impedem que sejam fagocitados.

Componentes da parede celular (p. 432)

2. As proteínas da parede celular podem facilitar a aderência ou impedir que o patógeno seja fagocitado.

Enzimas (p. 432, 433)

3. As infecções locais podem ser protegidas em um coágulo de fibrina causado pela enzima bacteriana coagulase.
4. As bactérias podem se disseminar de uma infecção focal por cinases (que destroem os coágulos sanguíneos), hialuronidases (que destroem os mucopolissacarídeos que mantêm as células unidas) e colagenases (que hidrolisam o tecido conectivo formado por colágeno).
5. As proteases IgA destroem os anticorpos IgA.

Variação antigênica (p. 433)

6. Alguns micróbios variam a expressão de antígenos, evitando assim os anticorpos do hospedeiro.

Penetração no citoesqueleto das células do hospedeiro (p. 433)

7. As bactérias podem produzir proteínas que alteram a actina do citoesqueleto das células hospedeiras, o que permite às bactérias entrar nas células.

Como os patógenos bacterianos danificam as células do hospedeiro (p. 434-441)

Utilizando os nutrientes do hospedeiro: sideróforos (p. 434)

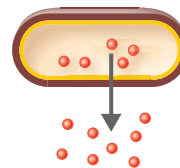
1. As bactérias obtêm ferro do hospedeiro usando sideróforos.

Dano direto (p. 434)

2. As células do hospedeiro podem ser destruídas quando os patógenos metabolizam e se multiplicam dentro delas.

A produção de toxinas (p. 434-439)

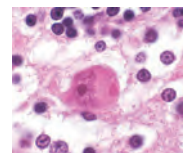
3. As substâncias venenosas produzidas por micro-organismos são chamadas de toxinas; a toxemia se refere à presença de toxinas no sangue. A capacidade de produzir toxinas é chamada de toxigenicidade.
4. As exotoxinas são produzidas por bactérias e liberadas no meio circundante. As exotoxinas, e não as bactérias que as produzem, geram os sintomas da doença.

5. Os anticorpos produzidos contra as toxinas são chamados de antitoxinas.
6. As toxinas A-B consistem em um componente ativo, que inibe os processos celulares, e um componente de ligação, que liga as duas porções à célula-alvo. Exemplo: toxina diftérica.
7. As toxinas danificadoras de membranas causam a lise celular. Exemplo: hemolisina.
8. Os superantígenos causam a liberação de citocinas, as quais causam febre, náuseas e outros sintomas. Exemplo: toxina da síndrome do choque tóxico.
9. As endotoxinas são lipopolissacarídeos (LPS), o componente lipídeo A da parede celular das bactérias gram-negativas.
10. A morte da célula bacteriana, os antibióticos e anticorpos podem causar a liberação de endotoxinas.
11. As endotoxinas causam febre (induzindo a liberação de interleucina 1) e choque (devido à redução da pressão arterial induzida por TNF).
12. As endotoxinas permitem às bactérias atravessar a barreira hematoencefálica.
13. O ensaio do lisado de amebócitos *Limulus* (LAL) é usado para detectar endotoxinas em drogas e em aparelhos médicos.

Plasmídeos, lisogenia e patogenicidade (p. 439-441)

14. Os plasmídeos podem carrear genes que conferem resistência a antibióticos e genes que codificam toxinas, cápsulas e fímbrias.
15. A conversão lisogênica pode resultar na aquisição de fatores de virulência pela bactéria, como toxinas e cápsulas.

Propriedades patogênicas dos vírus (p. 441, 442)

1. Os vírus evitam as respostas imunológicas do organismo crescendo dentro das células.
2. Os vírus obtêm acesso às células do hospedeiro porque apresentam sítios de ligação para receptores presentes nas células.
3. Os sinais visíveis de infecções virais são chamados de efeitos citopáticos (ECPs).

4. Alguns vírus causam efeitos citocidas (morte celular) e outros causam efeitos não citocidas (dano sem a ocorrência de morte).
5. Os efeitos citopáticos incluem bloqueio da mitose, lise, formação de corpúsculos de inclusão, fusão celular, mudanças antigênicas, mudanças cromossômicas e transformação celular.

Propriedades patogênicas de fungos, protozoários, helmintos e algas (p. 442-444)

1. Os sintomas de infecções fúngicas podem ser causados por cápsulas, toxinas ou respostas alérgicas.

2. Os sintomas das doenças causadas por protozoários e helmintos são resultado de dano aos tecidos do hospedeiro ou do acúmulo de dejetos metabólicos dos parasitas.
3. Alguns protozoários alteram seus antígenos de superfície enquanto crescem no interior do hospedeiro, evitando assim sua destruição pelos anticorpos.
4. Algumas algas produzem neurotoxinas que causam paralisia quando ingeridas por seres humanos.

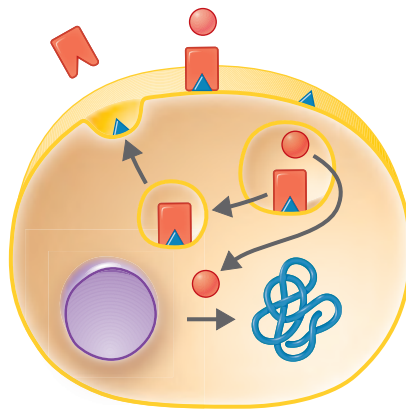
Portas de saída (p. 444, 445)

1. Os patógenos apresentam portas de saída definidas.
2. Três portas de saída comuns incluem o trato respiratório, através de tosse e espirro, o trato gastrintestinal, via fezes ou saliva, e o trato geniturinário, através de secreções da vagina ou do pênis.
3. Os artrópodes e as seringas funcionam como uma porta de saída para micróbios no sangue.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Compare patogenicidade e virulência.
2. Como as cápsulas e os componentes da parede celular estão relacionados à patogenicidade? Dê exemplos específicos.
3. Descreva como hemolisinas, leucocidinas, coagulase, cinases, hialuronidase, sideróforos e proteases IgA podem contribuir para a patogenicidade.
4. Explique como as drogas que se ligam a cada um dos itens a seguir podem afetar a patogenicidade:
   a. Ferro no sangue do hospedeiro.
   b. Fimbrias da *Neisseria gonorrhoeae.*
   c. Proteína M do *Streptococcus pyogenes.*
5. Compare e contraste os seguintes aspectos das endotoxinas e exotoxinas: fonte bacteriana, química, toxicidade e farmacologia. Dê um exemplo de cada toxina.
6. **DESENHE** Indique no diagrama como a toxina Shiga entra em uma célula humana e inibe a síntese de proteínas.

7. Descreva os fatores que contribuem para a patogenicidade de fungos, protozoários e helmintos.
8. Qual dos seguintes gêneros é o mais infeccioso?

Gênero	DI_{50}	Gênero	DI_{50}
Legionella	1 célula	*Shigella*	200 células
Salmonella	10^5 células	*Treponema*	52 células

9. Como os vírus e os protozoários evitam que as respostas imunológicas do hospedeiro os eliminem?

Múltipla escolha

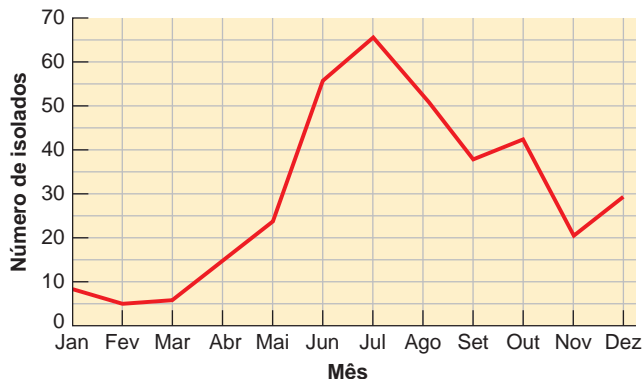
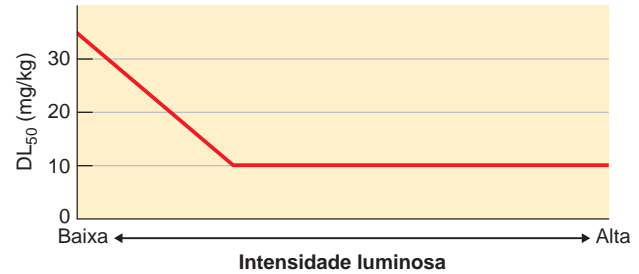
1. A remoção de plasmídeos reduz a virulência de qual dos seguintes organismos?
   a. *Clostridium tetani.*
   b. *Escherichia coli.*
   c. *Staphylococcus aureus.*
   d. *Streptococcus mutans.*
   e. *Clostridium botulinum.*
2. Qual é a DL_{50} da toxina bacteriana testada no exemplo a seguir?

Diluição (μg/kg)	Nº de animais mortos	Nº de animais sobreviventes
a. 6	0	6
b. 12,5	0	6
c. 25	3	3
d. 50	4	2
e. 100	6	0

3. Qual das seguintes opções *não* é uma porta de entrada para patógenos?
   a. Membranas mucosas do trato respiratório.
   b. Membranas mucosas do trato gastrintestinal.
   c. Pele.
   d. Sangue.
   e. Via parenteral.
4. Todas as opções a seguir podem ocorrer durante uma infecção bacteriana. Qual poderia prevenir todas as outras?
   a. Vacinação contra fímbrias.
   b. Fagocitose.
   c. Inibição da digestão fagocítica.
   d. Destruição de adesinas.
   e. Alteração do citoesqueleto.
5. A DI_{50} para *Campylobacter* sp. é de 500 células; a DI_{50} para *Cryptosporidium* sp. é de 100 células. Qual das afirmativas está incorreta?
   a. Ambos os micróbios são patogênicos.
   b. Ambos os micróbios produzem infecção em 50% dos hospedeiros inoculados.
   c. *Cryptosporidium* é mais virulento que *Campylobacter.*
   d. *Campylobacter* e *Cryptosporidium* são igualmente virulentos; eles causam infecção no mesmo número de animais de teste.
   e. A gravidade das infecções causadas por *Campylobacter* e *Cryptosporidium* não pode ser determinada pelas informações fornecidas.

6. Uma bactéria encapsulada pode ser virulenta porque sua cápsula:
   a. Resiste à fagocitose.
   b. É uma endotoxina.
   c. Destrói os tecidos do hospedeiro.
   d. Interfere com processos fisiológicos.
   e. Não tem efeito, pois muitos patógenos não possuem cápsulas, de forma que a cápsula não contribui para a virulência.
7. Uma droga que se liga à manose em células humanas pode evitar:
   a. A entrada da enterotoxina colérica.
   b. A aderência da *E. coli* enteropatogênica.
   c. A ação da toxina botulínica.
   d. A pneumonia estreptocócica.
   e. A ação da toxina diftérica.
8. As primeiras vacinas contra a varíola consistiam de tecidos infectados que eram esfregados na pele de uma pessoa saudável. O receptor dessa vacina normalmente desenvolvia infecções mais brandas de varíola, se recuperava e permanecia imunizado por toda vida. Qual é a razão mais provável para que essa vacina não matasse mais pessoas?
   a. A pele é a porta de entrada incorreta para o vírus que causa a varíola.
   b. A vacina consistia de uma forma atenuada do vírus.
   c. A varíola normalmente é transmitida pelo contato pele a pele.
   d. A varíola é um vírus.
   e. O vírus sofreu mutações.
9. Qual das opções a seguir não representa o mesmo mecanismo de evasão das defesas imunes em relação às outras infecções?
   a. O vírus da raiva se liga ao receptor para o neurotransmissor acetilcolina.
   b. A *Salmonella* se liga ao receptor para o fator de crescimento epidérmico.
   c. O vírus Epstein-Barr (EBV) se liga ao receptor de complemento do hospedeiro.
   d. Os genes das proteínas de superfície de *Neisseria gonorrhoeae* sofrem constantes mutações.
   e. Nenhuma das alternativas.
10. Qual das afirmações a seguir é verdadeira?
   a. O objetivo primário de um patógeno é matar seu hospedeiro.
   b. A evolução seleciona os patógenos mais virulentos.
   c. Um patógeno de sucesso não mata seu hospedeiro antes de ser transmitido.
   d. Um patógeno de sucesso nunca mata seu hospedeiro.

Pensamento crítico

1. O gráfico a seguir mostra casos confirmados de *E. coli* enteropatogênicas. Por que a incidência é sazonal?

2. A cianobactéria *Microcystis aeruginosa* produz um peptídeo tóxico para os seres humanos. De acordo com o gráfico a seguir, quando a bactéria é mais tóxica?

3. Quando injetada em ratos, a DI_{50} para *Salmonella typhimurium* é de 10^6 células. Se sulfonamidas são injetadas com a salmonela, a DI_{50} é de 35 células. Explique a mudança no valor da DI_{50}.
4. Como cada uma das seguintes estratégias contribui para a virulência do patógeno? Qual doença cada organismo causa?

Estratégia	Patógeno
Altera sua parede celular depois que entra no hospedeiro.	*Yersinia pestis*
Utilizam a ureia para produzir amônia.	*Helicobacter pilori*
Faz com que o hospedeiro produza mais receptores.	*Rhinovirus*

Aplicações clínicas

1. Em 8 de julho, uma mulher recebeu um antibiótico para uma sinusite presumida. Entretanto, sua condição piorou e ela ficou impossibilitada de comer por quatro dias em razão de dor intensa e imobilidade da mandíbula. Em 12 de julho, ela foi hospitalizada com espasmos faciais intensos. Ela relatou que em 5 de julho havia sofrido um pequeno ferimento na base do dedão do pé. Ela limpou o ferimento, mas não procurou auxílio médico. O que causou seus sintomas? Sua condição foi devida a uma infecção ou a uma intoxicação? Ela pode transmitir essa doença para outra pessoa?
2. Indique se cada um dos exemplos a seguir representa uma infecção ou uma intoxicação. Qual é o agente etiológico provável em cada caso?
   a. Oitenta e duas pessoas que comeram camarão em Port Allen, Louisiana, desenvolveram diarreia, náusea, dores de cabeça e febre de 4 horas a 2 dias depois do consumo.
   b. Duas pessoas em Vermont, que comeram filé de barracuda pescada na Flórida, tiveram mal-estar, náusea, visão desfocada, dificuldades respiratórias e dormência de 3 a 6 horas após o consumo.
3. Pacientes com câncer que estão fazendo quimioterapia normalmente são mais suscetíveis a infecções. No entanto, um paciente recebendo uma droga antitumoral que inibe a divisão celular se mostrou resistente à *Salmonella*. Proponha um possível mecanismo para à resistência.

16 Imunidade Inata: Defesas Inespecíficas do Hospedeiro

Pelo que foi discutido até agora, você pode notar que os micro-organismos patogênicos são dotados de propriedades peculiares que permitem a eles causar doenças, dado o momento oportuno. Se os micro-organismos nunca encontrassem resistência do hospedeiro, estaríamos constantemente doentes e eventualmente morreríamos de várias doenças. Na maioria dos casos, entretanto, as defesas de nosso corpo impedem que isso ocorra. Algumas dessas defesas foram desenvolvidas para manter os micro-organismos completamente fora, outras para removê-los caso eles entrem, e ainda outras para combatê-los caso eles permaneçam no corpo.

Nossa capacidade de combater as doenças causadas por micróbios ou por seus produtos e nos proteger contra agentes do ambiente como pólen, drogas, alimentos, químicos e escamas animais é chamada de **imunidade** ou **resistência**. A vulnerabilidade ou a ausência de imunidade é referida como **suscetibilidade**. Temos duas linhas de defesa contra os patógenos. A primeira é a nossa pele e as membranas mucosas. A segunda consiste em várias células defensivas, inflamação, febre e substâncias antimicrobianas produzidas pelo corpo.

SOB O MICROSCÓPIO
Burkholderia cepacia. Essas bactérias gram-negativas podem degradar uma ampla variedade de moléculas orgânicas, inclusive alguns desinfetantes.

P&R

Durante um ano, 74 pacientes contraíram infecções nosocomiais em um hospital. Todos os 74 pacientes eram intubados e ventilados mecanicamente. As infecções eram causadas pela *Burkholderia cepacia* transmitida em colutórios orais (solução para bochecho) não estéreis. Por que esses pacientes desenvolveram a infecção enquanto os outros que usaram o colutório oral não se tornaram infectados?

Procure pela resposta neste capítulo.

Imunidade inata		Imunidade adaptativa (Capítulo 17)
Primeira linha de defesa	Segunda linha de defesa	Terceira linha de defesa
• Pele intacta • Membranas mucosas e suas secreções • Microbiota normal	• Fagócitos como neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas e macrófagos • Inflamação • Febre • Substâncias antimicrobianas	• Linfócitos especializados: células T e B • Anticorpos

Figura 16.1 Uma visão geral das defesas do corpo. A imunidade inata envolve defesas contra qualquer patógeno, independente da espécie; a imunidade adaptativa envolve defesas contra um patógeno específico.

P Qual é a diferença entre imunidade e suscetibilidade?

Conceito de imunidade

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

16-1 Diferenciar imunidade inata e imunidade adaptativa.

16-2 Definir receptores do tipo *Toll*.

Quando os micróbios atacam nossos corpos, nos defendemos utilizando vários mecanismos de imunidade. Em geral, existem dois tipos de imunidade: inata e adaptativa (**Figura 16.1**). A **imunidade inata** refere-se às defesas que estão presentes ao nascimento. Elas estão sempre disponíveis para proporcionar respostas rápidas para a proteção contra as doenças. A imunidade inata não envolve o reconhecimento específico de um micróbio. Além disso, ela não tem uma resposta de memória, isto é, uma reação imune mais rápida e mais forte ao mesmo micróbio em um outro momento. Entre os componentes da imunidade inata estão a primeira linha de defesa (pele e membranas mucosas) e a segunda linha de defesa (células assassinas naturais e fagócitos, inflamação, febre e substâncias antimicrobianas). As respostas imunes inatas representam o sistema de alerta precoce da imunidade e são projetadas para impedir que os micróbios tenham acesso ao corpo e para ajudar a eliminar aqueles que tiverem acesso.

A **imunidade adaptativa** tem como base uma resposta específica a um determinado micróbio caso ele tenha rompido as defesas da imunidade inata. Ela se adapta ou se ajusta para lidar com um micróbio em particular. Diferentemente da imunidade inata, a imunidade adaptativa é mais lenta em responder, porém apresenta um componente de memória. A imunidade adaptativa envolve linfócitos (um tipo de células brancas do sangue) chamados de células T (linfócitos T) e células B (linfócitos B), discutidos em detalhe no Capítulo 17. Aqui, nos concentraremos na imunidade inata.

Como observado anteriormente, o sistema imune inato responde rapidamente aos invasores, detectando-os e, portanto, tentando eliminá-los. Descobriu-se recentemente que as respostas do sistema inato são ativadas por proteínas receptoras presentes na membrana plasmática das células defensivas; dentre esses ativadores estão os **receptores do tipo Toll** (**TLRs**, de *Toll-like receptors*). Esses TLRs ligam-se a vários componentes geralmente encontrados nos patógenos que são chamados de **padrões moleculares associados a patógenos** (**PAMPs**, de *pathogen-associated molecular patterns*). Veja a Figura 16.7. Exemplos incluem o lipopolissacarídeo (LPS) da membrana externa de bactérias gram-negativas, a flagelina dos flagelos de bactérias móveis, os peptideoglicanos da parede celular de bactérias gram-positivas, o DNA de bactérias, e o DNA e o RNA de vírus. Os TLRs também se ligam a componentes de fungos e parasitas. Você aprenderá mais tarde neste capítulo que dois tipos de células defensivas envolvidas na imunidade inata são chamados de macrófagos e células dendríticas. Quando os TLRs dessas células encontram os PAMPs dos micróbios, como o LPS de bactérias gram-negativas, os TLRs induzem as células defensivas a liberarem químicos chamados de citocinas. As **citocinas** (*cito* = célula; *cinese* = movimento) são proteínas que regulam a intensidade e a duração das respostas imunes. Uma função das citocinas é recrutar outros macrófagos e células dendríticas, assim com outras células defensivas, para isolar e destruir os micróbios como parte da resposta inflamatória. As citocinas também podem ativar as células T e B envolvidas na imunidade adaptativa. Você verá mais sobre as diferentes citocinas e suas funções no Capítulo 17.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que sistema de defesa, imunidade inata ou adaptativa, impede a entrada de micróbios no corpo? **16-1**

✓ Que relação existe entre os receptores do tipo Toll e os padrões moleculares associados a patógenos? **16-2**

PRIMEIRA LINHA DE DEFESA: PELE E MEMBRANAS MUCOSAS

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

16-3 Descrever a função da pele e das membranas mucosas na imunidade inata.

16-4 Diferenciar fatores físicos de fatores químicos e listar cinco exemplos de cada.

16-5 Descrever a função da microbiota normal na imunidade inata.

A pele e as membranas mucosas são a primeira linha de defesa do corpo contra os patógenos do ambiente. Essa função resulta de fatores químicos e físicos. Enquanto os fatores físicos incluem barreiras à entrada ou processos que removem micróbios da superfície do corpo, os fatores químicos incluem substâncias produzidas pelo corpo que inibem o crescimento microbiano ou que destroem os micróbios.

Fatores físicos

Em termos de área de superfície e peso, a **pele** intacta é o maior órgão humano, além de ser um componente extremamente importante da primeira linha de defesa (veja a Figura 16.1). Ela consiste em duas partes: a derme e a epiderme (**Figura 16.2**). A **derme**, a parte mais interna e espessa da pele, é constituída de tecido conjuntivo. A **epiderme**, a parte externa e mais fina, está em contato direto com o ambiente externo. Ela consiste em muitas camadas de folhas contínuas de células epiteliais firmemente unidas, com pouco ou nenhum material entre as células. A camada superior da epiderme é morta e contém uma proteína protetora chamada de **queratina**. A renovação constante da camada superior ajuda a remover os micróbios da superfície. Além disso, a secura da pele é um fator importante para inibir o crescimento microbiano. Embora a microbiota normal e outros micróbios estejam presentes em toda sua extensão, eles são mais numerosos nas áreas mais úmidas da pele. Quando a pele está mais úmida, como nos climas quentes e úmidos, as infecções são bastante comuns, principalmente as causadas por fungos como o pé-de-atleta. Esses fungos hidrolisam a queratina quando há água disponível.

Se considerarmos as células firmemente aderidas umas às outras, as camadas contínuas, a secura e a renovação da pele, podemos entender porque a pele intacta fornece uma barreira tão formidável contra a entrada de micro-organismos. A superfície intacta da epiderme saudável raramente é penetrada por micro-organismos. Entretanto, quando a superfície epitelial é rompida, uma infecção subcutânea (abaixo da pele) em geral se desenvolve. As bactérias mais prováveis de causarem as infecções são os estafilococos, que normalmente habitam a epiderme, os folículos pilosos e as glândulas sudoríparas e sebáceas da pele. As infecções da pele e dos tecidos subjacentes frequentemente resultam de queimaduras, cortes, ferimentos provocados por material pontiagudo ou outras condições que rompam a pele.

As células epiteliais chamadas de *células endoteliais*, que revestem internamente os vasos sanguíneos e os vasos linfáticos, não são tão unidas quanto as da epiderme. Embora esse arranjo permita que as células defensivas trafeguem do sangue para os tecidos durante a inflamação, ele também permite que os micróbios trafeguem para dentro e para fora do sangue e da linfa.

As **membranas mucosas** também consistem em uma camada epitelial e uma camada de tecido conjuntivo subjacente. Elas são um componente importante da primeira linha de defesa (veja a Figura 16.1) e inibem a entrada de muitos micro-organismos. As membranas mucosas revestem internamente por completo os tratos gastrintestinal, respiratório e geniturinário. A camada epitelial de uma membrana mucosa secreta um fluido chamado de **muco**, uma substância glicoproteica ligeiramente viscosa (espessa) produzida pelas células caliciformes de uma membrana mucosa. Entre outras funções, o muco impede o ressecamento dos tratos. Alguns patógenos que podem se desenvolver nas secreções úmidas da membrana mucosa são capazes de penetrar a membrana se o micro-organismo estiver presente em quantidades suficientes. O *Treponema pallidum* é um desses patógenos. Essa penetração pode ser facilitada por substâncias tóxicas produzidas pelo micro-organismo, lesão prévia por infecção viral ou irritação da mucosa.

Figura 16.2 **Uma secção de pele humana.** As camadas finas no topo desta fotomicrografia contêm queratina. Essas camadas e as células em roxo mais escuro localizadas logo abaixo constituem a epiderme. O material de tom menos arroxeado e inferior à epiderme é a derme.

P **A pele intacta e as membranas mucosas são componentes de qual linha de defesa contra os patógenos?**

Além da barreira física da pele e das membranas mucosas, vários outros fatores físicos ajudam a proteger certas superfícies epiteliais. Um mecanismo semelhante que protege os olhos é o **aparelho lacrimal**, um grupo de estruturas que produz e escoa as lágrimas (**Figura 16.3**). As glândulas lacrimais, localizadas em direção à parte superior externa da órbita ocular, produzem as lágrimas e fazem com que escorram por debaixo da pálpebra superior. Daí, as lágrimas seguem em direção ao canto do olho próximo ao nariz e para dentro de pequenas aberturas que conduzem dos tubos (canais lacrimais) até o nariz. Ao piscar, as lágrimas são espalhadas sobre a superfície do globo ocular. Normalmente, elas evaporam ou passam

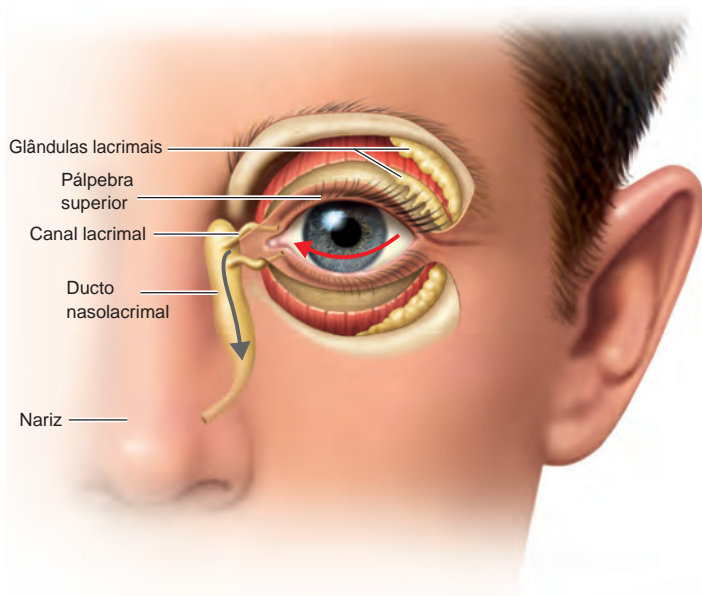



Figura 16.3 O aparelho lacrimal. A ação de lavagem das lágrimas é mostrada pela seta vermelha que passa pela superfície do globo ocular. As lágrimas produzidas pelas glândulas lacrimais atravessam a superfície do globo ocular até as duas pequenas aberturas que conduzem as lágrimas para dentro dos canais lacrimais e do ducto nasolacrimal.

P Como o aparelho lacrimal protege os olhos contra infecções?

para dentro do nariz tão rápido quanto são produzidas. Essa ação de lavagem contínua impede que os micro-organismos se estabeleçam sobre a superfície do olho. Se uma substância irritante ou um número considerável de micro-organismos entra em contato com o olho, as glândulas lacrimais começam a secretar excessivamente, e as lágrimas se acumulam mais rapidamente do que podem ser eliminadas. Essa produção excessiva é um mecanismo de proteção, pois o excesso de lágrimas dilui e lava a substância irritante ou os micro-organismos.

Em uma ação de limpeza muito similar à das lágrimas, a **saliva**, produzida pelas glândulas salivares, ajuda a diluir uma grande quantidade de micro-organismos e os remove da superfície dos dentes e da membrana mucosa da boca. Isso ajuda a impedir a colonização pelos micróbios.

P&R Os tratos respiratório e gastrintestinal apresentam muitas formas físicas de defesa. O **muco**, produzido pelas membranas mucosas, retém muitos dos micro-organismos que penetram os tratos respiratório e gastrintestinal. A membrana mucosa do nariz também apresenta **pelos** recobertos de muco que filtram o ar inalado e retêm micro-organismos, poeira e poluentes. As células da membrana mucosa do trato respiratório inferior são recobertas por **cílios**. Por meio de movimentos sincronizados, esses cílios impulsionam a poeira inalada e os micro-organismos que ficaram retidos na porção superior em direção à garganta. Os assim chamados **elevadores ciliares** (Figura 16.4) mantêm o manto de muco movendo-se em direção à garganta a uma taxa de 1 a 3 cm por hora; a tosse e o espirro aceleram o elevador. Algumas substâncias na fumaça do cigarro são tóxicas para os cílios e podem prejudicar seriamente o funcionamento dos elevadores ciliares ao inibir ou destruir os cílios. Pacientes sob ventilação mecânica são vulneráveis às infecções do trato respiratório, pois o mecanismo do elevador ciliar é inibido. Os micro-organismos são impedidos de entrar no trato respiratório inferior por uma pequena tampa de cartilagem chamada de **epiglote**, que recobre a laringe (caixa de voz) durante a deglutição.

A limpeza da uretra pelo fluxo de **urina** é outro fator físico que evita a colonização microbiana no trato geniturinário. Como você verá mais adiante, quando infecções ou cateteres urinários alteram o fluxo de urina, podem ocorrer infecções do trato urinário. Da mesma maneira, as **secreções vaginais** movimentam os micro-organismos para fora do corpo feminino.

Peristalse, defecação e **vômito** também expelem micróbios. A peristalse é uma série de contrações coordenadas que impulsionam o alimento ao longo do trato gastrintestinal. A peristalse da massa fecal do intestino grosso para o reto resulta em defecação. Em resposta a toxinas microbianas, os músculos do trato gastrintestinal contraem vigorosamente, resultando em vômito e/ou diarreia, que também podem livrar o corpo de micróbios.

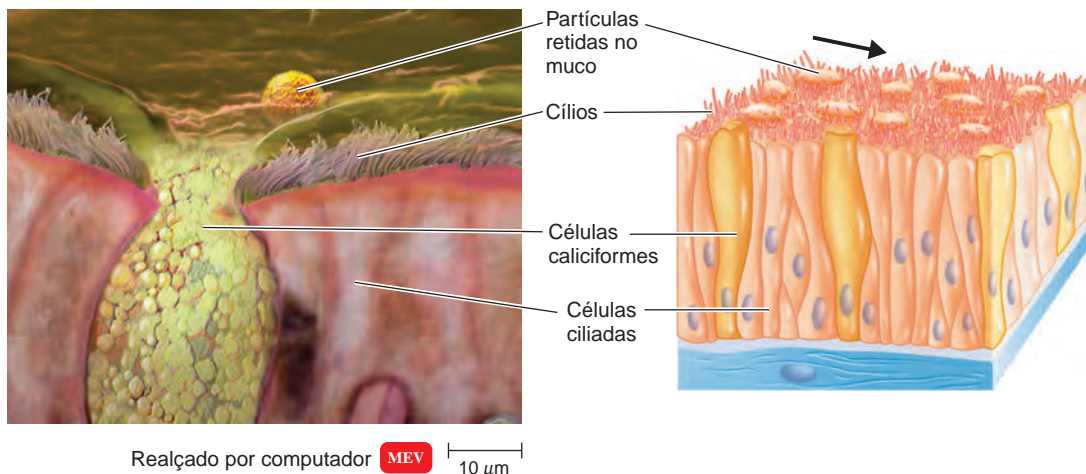



Figura 16.4 O elevador ciliar.

P Qual é a função do elevador ciliar?

Fatores químicos

Os fatores físicos não são os únicos responsáveis pelo alto grau de resistência da pele ou das membranas mucosas à invasão microbiana. Certos fatores químicos também desempenham funções importantes.

As glândulas sebáceas (de óleo) da pele produzem uma substância oleosa chamada de **sebo**, que impede que os pelos fiquem ressecados ou quebradiços. O sebo também forma um filme protetor sobre a superfície da pele. Um dos componentes do sebo consistem em ácidos graxos insaturados, que inibem o crescimento de certas bactérias e fungos patogênicos. O baixo pH da pele, entre 3 e 5, é causado em parte pela secreção de ácidos graxos e ácido lático. A acidez da pele provavelmente desestimula o crescimento de muitos outros micro-organismos.

As bactérias que vivem como comensais na pele decompõem as células cutâneas descamadas, e as moléculas orgânicas resultantes e os produtos finais de seu metabolismo produzem o odor do corpo. Como veremos no Capítulo 21, certas bactérias encontradas com frequência na pele metabolizam o sebo, e este metabolismo forma ácidos graxos livres que causam a resposta inflamatória associada à acne. A isotretinoína (Acutane, Racutan), um derivado da vitamina A que impede a formação do sebo, é um tratamento indicado para um tipo bastante grave de acne chamado de acne cística.

As glândulas sudoríparas da pele produzem a **perspiração**, que mantém a temperatura corporal, elimina certos resíduos e lava os micro-organismos da superfície da pele. A perspiração também contém **lisozima**, uma enzima capaz de decompor a parede celular de bactérias gram-postivas e, em menor extensão, bactérias gram-negativas (veja a Figura 4.13, página 86). Mais especificamente, a lisozima quebra as ligações químicas nos peptideoglicanos, destruindo assim a parede celular. A lisozima também é encontrada nas lágrimas, na saliva, nas secreções nasais, nos fluidos corporais e na urina, onde exibe sua atividade antimicrobiana. Enquanto estudava a lisozima em 1929, Alexander Fleming acidentalmente descobriu os efeitos antimicrobianos da penicilina (veja a Figura 1.5, página 12).

A saliva contém não somente uma enzima (amilase salivar) que digere o amido, mas também várias substâncias que inibem o crescimento microbiano, entre elas a lisozima, a ureia e o ácido úrico. O pH da saliva (6,55 a 6,85) também inibe alguns micróbios. A saliva contém um anticorpo (imunoglobulina A) que impede a fixação de micróbios, de modo que eles não possam penetrar o estômago. O **suco gástrico** é produzido pelas glândulas do estômago. Ele é uma mistura de ácido hidroclorídrico, enzimas e muco. A acidez bastante elevada do suco gástrico (pH 1,2 a 3,0) é suficiente para destruir as bactérias e muitas toxinas bacterianas, exceto as de *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus*. Entretanto, muitos patógenos entéricos são protegidos por partículas de alimento e podem entrar nos intestinos via trato gastrintestinal. Em contraste, a bactéria *Helicobacter pylori* neutraliza o ácido estomacal, permitindo desse modo que a bactéria cresça no estômago. Seu crescimento inibe uma resposta imune, o que resulta em gastrite e úlcera.

As **secreções vaginais** desempenham uma função na atividade antibacteriana de duas maneiras. O glicogênio produzido pelas células epiteliais da vagina é quebrado a ácido lático pelo *Lactobacillus acidophylus*. Isso cria um pH ácido (pH 3 a 5) que inibe os micróbios. O muco cervical também apresenta alguma atividade antimicrobiana.

A **urina**, além de apresentar a lisozima, tem um pH ácido (média igual a 6) que inibe os micróbios. Também, a urina contém ureia e outros produtos metabólicos, como ácido úrico, ácido hipúrico e indicano, que inibem os micróbios.

Mais adiante neste capítulo, veremos o outro grupo de químicos, os peptídeos antimicrobianos, que desempenham um papel importante na imunidade inata.

Microbiota normal e imunidade inata

Tecnicamente, a **microbiota normal** em geral não é considerada parte da primeira linha de defesa do sistema imune inato, mas é discutida aqui devido à proteção considerável que ela oferece (veja a Figura 16.1). O Capítulo 14 descreveu várias relações entre a microbiota normal e as células hospedeiras. Algumas dessas relações ajudam a prevenir o crescimento excessivo de patógenos e dessa maneira podem ser consideradas um componente da imunidade inata. Por exemplo, no antagonismo microbiano, a microbiota normal impede que os patógenos colonizem o hospedeiro por competição pelos nutrientes (exclusão competitiva), produção de substâncias que sejam prejudiciais aos patógenos e alteração das condições que afetam a sobrevivência dos patógenos, como o pH e a disponibilidade de oxigênio. A presença da microbiota normal na vagina, por exemplo, altera o pH, impedindo desse modo a superpopulação por *Candida albicans*, uma levedura patogênica que causa a vaginite. No intestino grosso, a bactéria *E. coli* produz bacteriocinas que inibem o crescimento da *Salmonella* e da *Shigella*.

No comensalismo, um organismo utiliza o corpo de um organismo maior como seu ambiente físico, podendo fazer uso desse corpo para obter nutrientes. Assim, um organismo se beneficia enquanto o outro não é afetado. Muitos micróbios que fazem parte da microbiota comensal são encontrados na pele e no trato gastrintestinal. Em sua maioria são bactérias que têm mecanismos de fixação altamente especializados e necessidades exatas do meio para sobrevivência. Normalmente, esses micróbios são inofensivos, mas podem causar doenças caso as condições ambientais em que vivem sofram mudanças. Esses patógenos oportunistas incluem *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermitis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e estreptococos orais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Identifique um fator físico e um fator químico que impeçam os micróbios de penetrarem no corpo através da pele e das membranas mucosas. **16-3**
- ✓ Identifique um fator físico e um fator químico que impeçam os micróbios de penetrarem ou colonizarem o corpo através dos olhos, do trato digestivo e do trato respiratório. **16-4**
- ✓ Diferencie antagonismo microbiano de comensalismo. **16-5**

SEGUNDA LINHA DE DEFESA

Quando os micróbios ultrapassam a primeira linha de defesa, encontram uma segunda linha, que inclui células defensivas como as células fagocíticas, inflamação e substâncias antimicrobianas.

Antes de estudarmos as células fagocíticas, é necessário compreendermos os componentes celulares do sangue.

Elementos constituintes do sangue

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

16-6 Classificar os leucócitos e descrever as funções dos granulócitos e monócitos.

16-7 Definir *contagem diferencial de leucócitos*.

O sangue consiste em fluido, chamado de **plasma**, e **elementos constituintes** – isto é, células e fragmentos celulares suspensos no plasma (**Tabela 16.1**). Dos elementos constituintes listados na Tabela 16.1, aqueles que nos interessam agora são os **leucócitos,** ou células brancas do sangue.

Os leucócitos são divididos em duas categorias principais com base em sua aparência ao microscópio óptico: granulócitos e agranulócitos. Os **granulócitos** possuem este nome devido à presença de grandes grânulos em seu citoplasma que podem ser vistos ao microscópio óptico após coloração histológica. Eles são diferenciados em três tipos de células, com base na coloração dos grânulos: neutrófilos, basófilos e eosinófilos. Os grânulos dos **neutrófilos** se coram em lilás-claro com uma mistura de corantes ácidos e básicos. Os neutrófilos também são comumente chamados de *leucócitos polimorfonucleares* (*PMNs, polymorphonuclear leukocytes*), ou *polimorfos*. (O termo *polimorfonuclear* deve-se ao fato de que os núcleos dos neutrófilos contêm de dois a cinco lobos.) Os neutrófilos, que são altamente móveis e fagocíticos, são ativos nos estágios iniciais de uma infecção (veja a Figura 16.1). Eles têm a capacidade de deixar o sangue, chegar ao tecido infectado e destruir os micróbios e partículas estranhas. Os **basófilos** se coram em azul-púrpura com o corante básico azul de metileno. Eles liberam substâncias como a histamina, que são importantes na inflamação e nas respostas alérgicas. Os **eosinófilos** se coram em vermelho ou laranja com o corante ácido eosina. Eles são de algum modo fagocíticos e também têm a capacidade de deixar o sangue. Sua função principal é produzir proteínas tóxicas contra certos parasitas, como os helmintos. Embora os eosinófilos sejam fisicamente muito pequenos para ingerir e destruir os helmintos, eles podem se fixar à superfície externa dos parasitas e liberar íons peróxido que os destroem (veja a Figura 17.14, página 490). Sua quantidade aumenta significativamente durante certas infecções por vermes parasitários e nas reações de hipersensibilidade (alergia).

Os **agranulócitos** também têm grânulos em seu citoplasma, mas os grânulos não são visíveis ao microscópio óptico após coloração. Existem três tipos de agranulócitos: monócitos, células dendríticas e linfócitos. Os **monócitos** não são ativamente fagocíticos até que deixem o sangue circulante, entrem nos tecidos do corpo e se tornem **macrófagos**. Na verdade, a proliferação de linfócitos é um outro fator responsável pelo aumento dos linfonodos durante uma infecção. Quando o sangue e a linfa que contêm micro-organismos passam pelos órgãos contendo macrófagos, os micro-organismos são removidos por fagocitose. Os macrófagos também eliminam células velhas do sangue.

Acredita-se que as **células dendríticas** (veja a Figura 16.1) sejam derivadas dos monócitos. Elas apresentam longos prolongamentos que se assemelham aos dendritos das células nervosas, daí o seu nome. As células dendríticas são, sobretudo, abundantes na epiderme da pele, nas membranas mucosas, no timo e nos linfonodos. A função das células dendríticas é destruir os micróbios por fagocitose e iniciar as respostas da imunidade adaptativa (veja o Capítulo 17, página 490).

Os **linfócitos** incluem as células assassinas naturais, as células T e as células B. As **células assassinas naturais** (**células NK**, de *natural killer cells*) são encontradas no sangue, no baço, nos linfonodos e na medula óssea vermelha. Elas têm a capacidade de matar uma ampla variedade de células infectadas do corpo e certas células tumorais. As células NK atacam quaisquer células do corpo que apresentem proteínas de membrana plasmática anormais ou incomuns. A ligação das células NK a uma célula-alvo, como uma célula humana infectada, causa a liberação de vesículas contendo substâncias tóxicas das células NK. Alguns grânulos contêm uma proteína chamada de **perforina**, que se insere na membrana plasmática da célula-alvo e cria canais (perfurações) na membrana. Como consequência, o fluido extracelular flui para dentro da célula-alvo e ela se rompe, um processo chamado de **citólise** (*cito* = célula; *lise* = separação).* Outros grânulos das células NK liberam **granzimas**, enzimas digestoras de proteínas que induzem a célula-alvo a sofrer apoptose ou autodestruição. Esse tipo de ataque mata as células infectadas, mas não os micróbios dentro das células; os micróbios liberados, que podem ou não estar intactos, podem ser destruídos pelos fagócitos.

As **células T** e **B** geralmente não são fagocíticas, porém exercem uma função importante na imunidade adaptativa (veja o Capítulo 17). Elas estão presentes nos tecidos linfoides do sistema linfático e também circulam no sangue.

Em vários tipos de infecções, principalmente nas infecções bacterianas, o número total de células brancas do sangue aumenta como uma resposta protetora para combater os micróbios; esse aumento é chamado de *leucocitose*. Durante o estágio ativo da infecção, a contagem de leucócitos pode dobrar, triplicar ou quadruplicar, dependendo da gravidade da infecção. Doenças que podem causar elevação na contagem de leucócitos incluem meningite, mononucleose infecciosa, apendicite, pneumonia pneumocócica e gonorreia. Outras doenças como a salmonelose e a brucelose, e algumas infecções por riquétsias e virais, podem causar uma *diminuição* na contagem de leucócitos, chamada de *leucopenia*. A leucopenia pode estar relacionada à produção prejudicada de células brancas do sangue ou ao efeito da sensibilidade aumentada das membranas das células brancas ao dano causado pelo complemento, proteínas antimicrobianas do soro discutidas mais adiante neste capítulo. O aumento ou a diminuição podem ser detectados por uma **contagem diferencial de leucócitos**, calculada pela porcentagem de cada tipo de célula branca em uma amostra de

* N. de T. No original, o vocábulo *lise* (do inglês *lysis*) está definido como *afrouxamento* (do inglês *loosening*), o que não corresponde exatamente ao significado grego desse radical, que é *separação*.

Tabela 16.1 Elementos constituintes do sangue

I. Hemácias (glóbulos vermelhos)

4,8 a 5,4 milhões por µL ou mm^3

Função: transporte de O_2 e CO_2

MO 4 µm

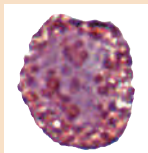
II. Leucócitos (glóbulos brancos)

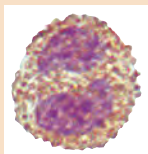
5.000 a 10.000 por µL ou mm^3

A. Granulócitos (corados)

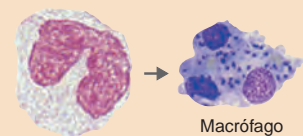
1. Neutrófilos (PMNs) (60 a 70% dos leucócitos)
   Função: fagocitose

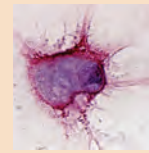
MO 4 µm

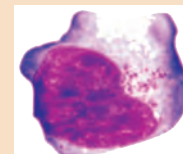
2. Basófilos (0,5 a 1%)
   Função: produção de histamina

MO 3 µm

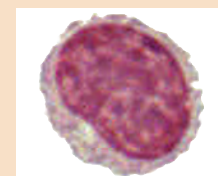
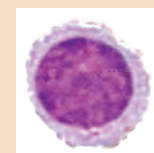
3. Eosinófilos (2 a 4%)
   Função: produção de proteínas tóxicas contra certos parasitas; alguma fagocitose

MO 4 µm

B. Agranulócitos (corados)

1. Monócitos (3 a 8%)
   Função: fagocitose (quando se diferenciam em macrófagos)

MO 5 µm MO 10 µm

2. Células dendríticas
   Funções: derivadas dos monócitos; fagocitose e início da resposta imune adaptativa

MO 10 µm

3. Linfócitos (20 a 25%).
   - Células assassinas naturais (células NK)
     Função: destruição de células-alvo por citólise e apoptose

MO 2,5 µm

   - Células T
     Função: imunidade celular (discutida no Capítulo 17)

   - Células B
     Função: produção de anticorpos por seus descendentes (plasmócitos)

MO 8 µm

III. Plaquetas

150.000 a 400.000 por µL ou mm^3

Função: coagulação sanguínea

MO 2,5 µm

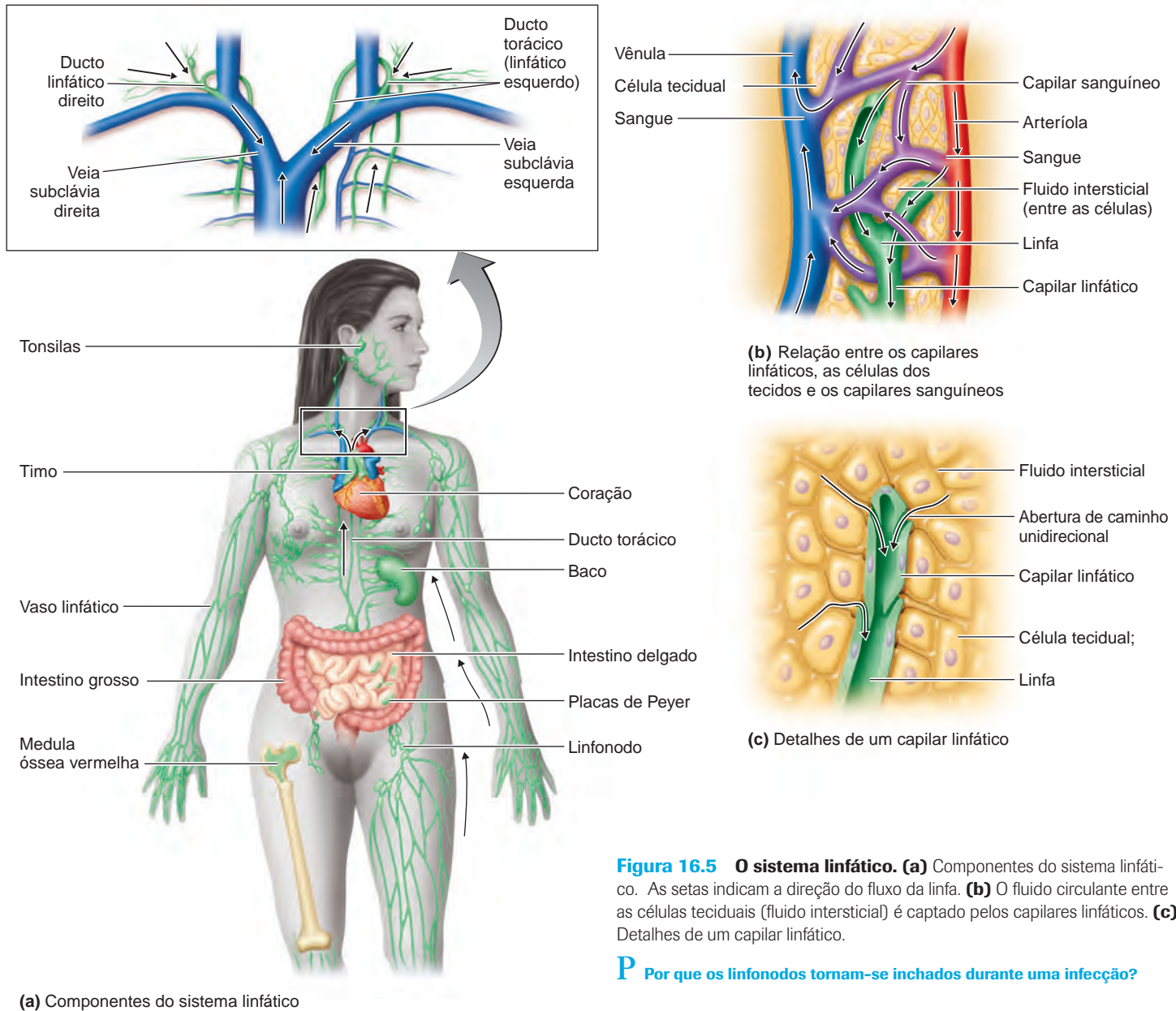



Figura 16.5 **O sistema linfático. (a)** Componentes do sistema linfático. As setas indicam a direção do fluxo da linfa. **(b)** O fluido circulante entre as células teciduais (fluido intersticial) é captado pelos capilares linfáticos. **(c)** Detalhes de um capilar linfático.

P Por que os linfonodos tornam-se inchados durante uma infecção?

100 células brancas do sangue. As porcentagens em uma contagem diferencial normal de células brancas são mostradas entre parênteses na Tabela 16.1.

Sistema linfático

OBJETIVO DO APRENDIZADO

16-8 Diferenciar os sistemas circulatório sanguíneo e linfático.

O **sistema linfático** consiste em um fluido chamado de *linfa*, em vasos chamados de *linfáticos*, em um número de estruturas e órgãos contendo *tecido linfoide*, e em uma *medula óssea vermelha*, onde células-tronco se desenvolvem em células do sangue, incluindo os linfócitos (**Figura 16.5a**). O tecido linfoide contém uma grande quantidade de linfócitos, incluindo células T e células B, e células fagocitárias que participam das respostas imunes.

Os vasos linfáticos iniciam como *capilares linfáticos* microscópicos localizados nos espaços entre as células (**Figuras 16.5b** e **16.5c**). Os capilares linfáticos permitem que o fluido intersticial derivado do plasma sanguíneo flua para dentro deles, e não para fora. Dentro dos capilares linfáticos, o fluido é chamado de linfa. Os capilares linfáticos convergem para formar vasos linfáticos maiores. Esses vasos, de modo similar às veias, apresentam válvulas unidirecionais para que o fluxo da linfa seja mantido em uma única direção. Nos intervalos ao longo dos vasos linfáticos, a linfa flui através dos *linfonodos*, que têm forma de feijão (Figura 16.5a). Os linfonodos são os locais de ativação das células T e B, as quais destroem os micróbios pelas respostas imunes (Capítulo

17). Também dentro dos linfonodos estão as fibras reticulares que retêm os micróbios, além dos macrófagos e das células dendríticas que destroem os micróbios por fagocitose. Finalmente, toda a linfa passa para dentro do *ducto torácico* (*linfático esquerdo*) e do *ducto linfático direito*, e então para dentro de suas respectivas veias subclávias, onde o fluido agora é chamado de plasma sanguíneo. O plasma sanguíneo move-se através do sistema cardiovascular e por fim torna-se fluido intersticial entre as células teciduais, quando então outro ciclo se inicia.

Os tecidos e os órgãos linfoides estão espalhados por todas as partes das membranas mucosas que revestem os tratos gastrintestinal, respiratório, urinário e reprodutivo. Eles protegem contra os micróbios que são ingeridos ou inalados. Vários agregados grandes de tecido linfoide estão localizados em partes específicas do corpo. Entre eles estão as *tonsilas palatinas* na garganta e as *placas de Peyer* no intestino delgado. Veja a Figura 17.9, página 487.

O *baço* contém linfócitos e macrófagos que monitoram o sangue pela presença de micróbios e produtos secretados, como as toxinas, de modo muito semelhante aos linfonodos ao monitorar a linfa. O *timo* funciona como um local para a maturação de células T. Ele também contém células dendríticas e macrófagos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Compare as estruturas e as funções dos monócitos e dos neutrófilos. **16-6**
- ✓ Descreva os seis tipos diferentes de células brancas do sangue e dê uma função para cada tipo. **16-7**
- ✓ Qual é a função dos linfonodos? **16-8**

Figura 16.6 Um macrófago engolfando bactérias em forma de bastonete. Os macrófagos do sistema fagocítico mononuclear removem os micro-organismos após a fase inicial da infecção.

P O que são monócitos?

Fagócitos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **16-9** Definir fagócito e fagocitose.
- **16-10** Descrever o processo de fagocitose e incluir os estágios de aderência e ingestão.
- **16-11** Identificar os seis mecanismos para evitar a destruição pela fagocitose.

Fagocitose (das palavras gregas que significam *comer* e *célula*) é a ingestão de um micro-organismo ou outras substâncias (como debris) por uma célula. Mencionamos anteriormente que fagocitose é o método de nutrição de certos protozoários. Ela também está envolvida na retirada de debris como corpos celulares mortos e proteínas desnaturadas. Neste capítulo, a fagocitose é discutida como um meio pelo qual as células do corpo humano se opõem à infecção como parte da segunda linha de defesa. As células que realizam essa função são coletivamente chamadas de **fagócitos**, dos quais todos são tipos ou derivados de células brancas sanguíneas.

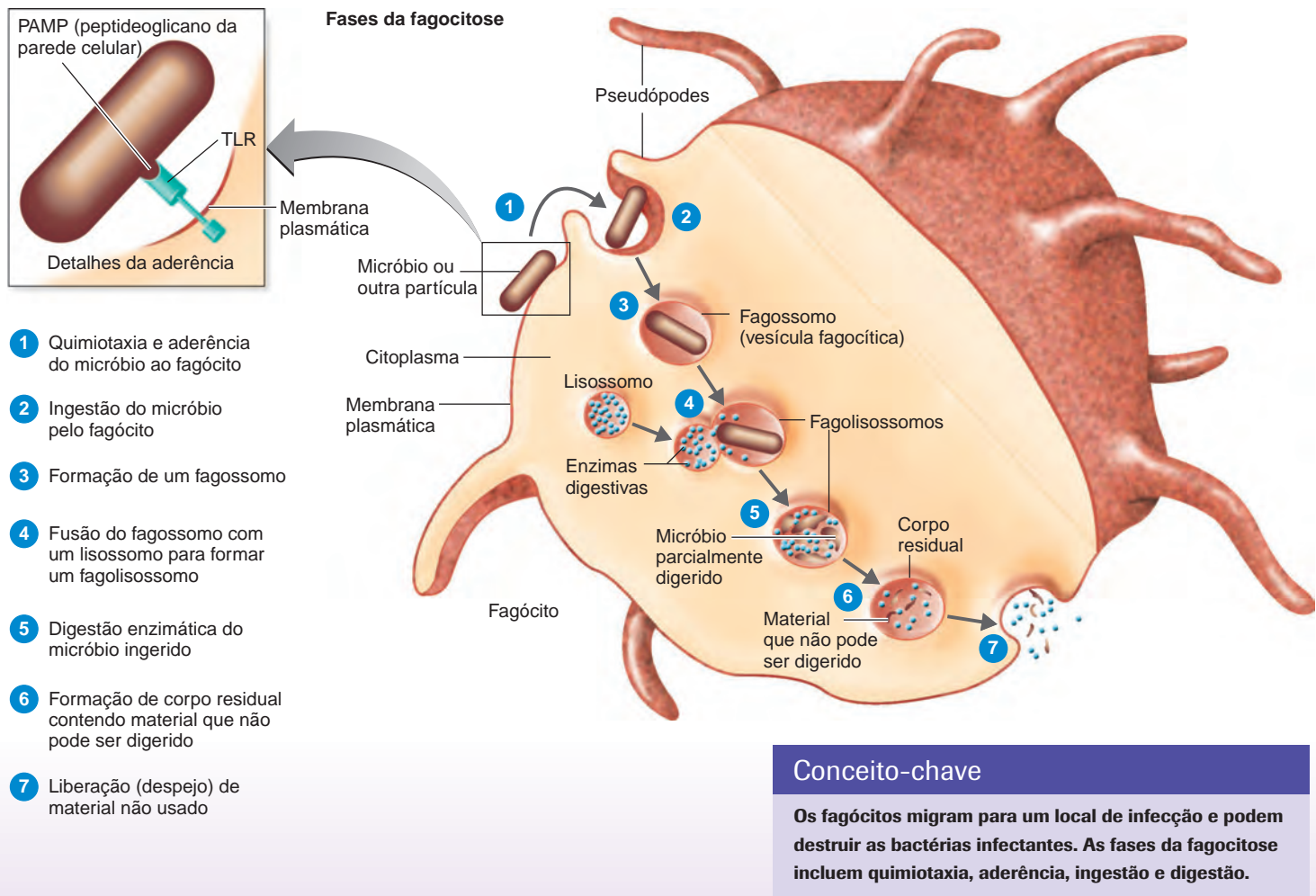
Ações das células fagocíticas

Quando ocorre uma infecção, os granulócitos (principalmente os neutrófilos, mas também os eosinófilos e as células dendríticas) e os monócitos migram para a área infectada. Durante essa migração, os monócitos ampliam o seu tamanho e se desenvolvem em macrófagos ativamente fagocitários (**Figura 16.6**). Essas células deixam o sangue e migram para os tecidos, onde tornam-se maiores e se desenvolvem em macrófagos. Alguns macrófagos, chamados de **macrófagos fixos**, ou *histiócitos*, residem em certos tecidos e órgãos do corpo. Macrófagos fixos são encontrados no fígado (células de Kupffer), nos pulmões (macrófagos alveolares), no sistema nervoso (microgliócitos), nos brônquios, no baço (macrófagos esplênicos), nos linfonodos, na medula óssea vermelha e na cavidade peritoneal que circunda os órgãos abdominais (macrófagos peritoneais). Outros macrófagos são móveis, sendo chamados de **macrófagos livres (errantes)**, que perambulam pelos tecidos e chegam aos locais da infecção ou inflamação. Os vários macrófagos do corpo constituem o **sistema fagocítico mononuclear (reticuloendotelial)**.

Durante o curso de uma infecção, ocorre uma mudança no tipo de leucócito que predomina na corrente sanguínea. Os granulócitos, principalmente os neutrófilos, predominam durante a fase inicial da infecção bacteriana, momento em que são ativamente fagocíticos; essa dominância é indicada por seu número elevado em uma contagem diferencial de leucócitos. Entretanto, à medida que a infecção progride, os macrófagos predominam; eles procuram por alimento e fagocitam bactérias vivas remanescentes, bactérias morrendo ou já mortas. O número de monócitos (que se desenvolvem em macrófagos) também é demonstrado em uma contagem diferencial de leucócitos.

Figura 16.7

FIGURA FUNDAMENTAL O mecanismo da fagocitose

A fagocitose é uma importante segunda linha de defesa, ativada quando há falha da primeira linha. A fagocitose também exerce uma função importante ao auxiliar a imunidade adaptativa estimulando as células T e B, como será visto no próximo capítulo.

Mecanismo da fagocitose

Como ocorre a fagocitose? Para nosso estudo, dividiremos a fagocitose em quatro fases principais: quimiotaxia, aderência, ingestão e digestão (**Figura 16.7**).

Quimiotaxia

1 **Quimiotaxia** é a atração química entre fagócitos e micro-organismos. (O mecanismo da quimiotaxia é discutido no Capítulo 4, página 82.) Entre as substâncias quimiotáticas que atraem os fagócitos estão os produtos microbianos, os componentes das células brancas do sangue e das células teciduais danificadas, as citocinas liberadas por outras células brancas do sangue e os peptídeos derivados do complemento, um sistema de defesa do hospedeiro discutido mais adiante neste capítulo.

Aderência

Uma vez que pertence à fagocitose, a **aderência** é a fixação da membrana plasmática do fagócito à superfície do micro-organismo ou a outros materiais estranhos. A aderência é facilitada pela fixação dos padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) dos micróbios aos receptores, como os receptores do tipo Toll (TLRs), na superfície dos fagócitos. A ligação dos PAMPs aos TLRs não somente inicia a fagocitose, mas também induz os fagócitos a liberarem citocinas específicas, que recrutam fagócitos adicionais.

Em algumas ocasiões, a aderência ocorre com facilidade, e o micro-organismo é prontamente fagocitado. Os micro-organismos podem ser fagocitados mais rapidamente se forem recobertos com certas proteínas do soro que promovem a fixação do micro-organismo ao fagócito. Esse processo de revestimento é chamado de **opsonização**. As proteínas que atuam como *opsoninas* incluem alguns componentes do sistema de complemento e moléculas de anticorpos (descritos mais adiante neste capítulo e no Capítulo 17).

Ingestão

❷ Após a aderência, ocorre a **ingestão**. Durante esse processo, a membrana plasmática do fagócito estende projeções chamadas de **pseudópodes**, que englobam o micro-organismo. (Veja também a Figura 16.6.)

❸ Uma vez que o micro-organismo esteja cercado, os pseudópodes se encontram e se fundem, envolvendo o micro-organismo com um sáculo chamado de **fagossomo**, ou *vesícula fagocítica*. A membrana de um fagossomo tem enzimas que bombeiam prótons (H^+) para dentro do fagossomo, reduzindo o pH para aproximadamente 4. Nesse pH, as enzimas hidrolíticas são ativadas.

Digestão

Nesta fase da fagocitose, o fagossomo se destaca da membrana plasmática e entra no citoplasma. Dentro do citoplasma, ele entra em contacto com os lisossomos que contêm enzimas digestivas e substâncias bactericidas (veja o Capítulo 4, página 104). ❹ No contato, as membranas do fagossomo e do lisossomo se fundem para formar uma estrutura única e maior chamada de **fagolisossomo**. ❺ Os conteúdos do fagolisossomo trazidos pela ingestão são digeridos no fagolisossomo.

As enzimas lisossômicas que atacam diretamente as células microbianas incluem a lisozima, que hidrolisa o peptideoglicano das paredes celulares bacterianas. Uma variedade de outras enzimas, como lipases, proteases, ribonucleases e desoxirribonucleases, hidrolisa outros componentes macromoleculares dos micro-organismos. Os lisossomos também contêm enzimas que podem produzir produtos tóxicos do oxigênio, como radicais superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), óxido nítrico (NO), oxigênio singleto ($^1O_2^-$) e radicais hidroxila (OH^-) (veja o Capítulo 6, páginas 161 e 162). Os produtos tóxicos do oxigênio são produzidos por um processo chamado de *explosão oxidativa*. Outras enzimas podem fazer uso desses produtos tóxicos do oxigênio para matar micro-organismos ingeridos. Por exemplo, a enzima mieloperoxidase converte íons cloreto (Cl^-) e peróxido de hidrogênio em ácido hipocloroso altamente tóxico (HOCL). O ácido contém íons hipoclorosos, que são encontrados na água sanitária, sendo responsáveis por sua atividade antimicrobiana (veja o Capítulo 7, página 197).

❻ Após as enzimas terem digerido os conteúdos do fagolisossomo levados por ingestão para dentro da célula, o fagolisossomo contém material não digerível e passa a ser chamado de *corpo residual*. ❼ Esse corpo residual então move-se em direção aos limites da célula e despeja seus resíduos fora dela.

Evasão microbiana da fagocitose

A habilidade de um patógeno de causar uma doença está relacionada com sua habilidade de escapar da fagocitose. Algumas bactérias apresentam estruturas que inibem a aderência, como a proteína M e as cápsulas. Como mencionado no Capítulo 15 (página 432), a proteína M de *Streptococcus pyogenes* inibe a fixação dos fagócitos às suas superfícies e torna a aderência mais difícil. Organismos com cápsulas grandes incluem o *Streptococcus pneumoniae* e o *Haemophilus influenzae* tipo b. Micro-organismos demasiadamente encapsulados como esses somente podem ser fagocitados se o fagócito retiver o micro-organismo contra uma superfície áspera, como um vaso sanguíneo, um coágulo sanguíneo ou fibras do tecido conjuntivo, dos quais o micróbio não consegue escapar.

Outros micróbios podem ser ingeridos, mas não mortos. Por exemplo, o *Staphylococcus* produz leucocidinas, que podem matar os fagócitos ao causar a liberação das próprias enzimas lisossômicas dos fagócitos para dentro do seu citoplasma. A estreptolisina liberada pelos estreptococos apresenta um mecanismo similar.

Uma vez dentro dessas células, vários patógenos intracelulares secretam toxinas formadoras de poros que rompem as membranas celulares dos fagócitos. Por exemplo, o *Trypanosoma cruzi* (o agente causador da tripanossomíase americana) e a *Listeria monocytogenes* (o agente causador da listeriose) produzem complexos de ataque à membrana que rompem as membranas do fagolisossomo e liberam os micróbios dentro do citoplasma do fagócito, onde eles se propagam. Mais tarde, os micróbios secretam mais complexos de ataque à membrana que rompem a membrana plasmática (veja a página 465) e liberam os micróbios do fagócito, resultando na lise do fagócito e na infecção das células vizinhas pelo micróbio.

Outros micróbios ainda têm a capacidade de sobreviver dentro dos fagócitos. *A Coxiella burnetii*, o agente causador da febre Q, de fato requer um pH baixo dentro de um fagolisossomo para se replicar. A *Listeria monocytogenes*, a *Shigella* (o agente causador da shigelose) e a *Rickettsia* (o agente causador da febre maculosa das Montanhas Rochosas e do tifo) têm a habilidade de escapar de um fagossomo antes que ele se funda a um lisossomo. O *Mycobacterium tuberculosis* (o agente causador da tuberculose), o HIV (o agente causador da Aids/HIV), a *Chlamydia* (o agente causador do tracoma, da uretrite não gonocócica e do linfogranuloma venéreo), a *Leishmania* (o agente causador da leishmaniose) e o *Plasmodium* (parasita da malária) podem impedir a fusão de um fagossomo com um lisossomo e a acidificação adequada das enzimas digestivas. Os micróbios então se multiplicam dentro do fagócito e quase o preenchem completamente. Em muitos casos, o fagócito morre e os micróbios são liberados por autólise para infectar outras células. Outros micróbios ainda, como o agente causador da tularemia e da brucelose, podem permanecer latentes dentro dos fagócitos por meses ou anos seguidos.

Os biofilmes também desempenham uma função na evasão dos fagócitos. As bactérias que fazem parte de biofilmes são muito mais resistentes à fagocitose, pois os fagócitos não podem destacá-las do biofilme antes da fagocitose.

Além disso, a resposta dos neutrófilos contra a *P. aeruginosa* em um biofilme é mais lenta que contra as bactérias livres. Ainda,

embora algumas bactérias em um biofilme, como a *P. aeruginosa*, possam ativar a resposta de explosão oxidativa, essa resposta é mais fraca que nas bactérias livres.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que os macrófagos fixos e os macrófagos livres fazem? **16-9**
- ✓ Qual é a função dos TLRs na fagocitose? **16-10**
- ✓ Como cada uma dessas bactérias escapa da destruição pelos fagócitos? *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Mycobacterium tuberculosis, Rickettsia.* **16-11**

* * *

Além de fornecer resistência inata (inespecífica) para o hospedeiro, a fagocitose desempenha um papel importante na imunidade adaptativa. Os macrófagos ajudam as células T e B a realizarem funções adaptativas imunes vitais. No Capítulo 17, discutiremos em mais detalhe como a fagocitose auxilia a imunidade adaptativa.

Na próxima seção, veremos como a fagocitose muitas vezes ocorre como parte de outro mecanismo de resistência inata: a inflamação.

Inflamação

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

16-12 Listar os estágios da inflamação.

16-13 Descrever as funções da vasodilatação, das cininas, das prostaglandinas e dos leucotrienos na inflamação.

16-14 Descrever a migração de um fagócito.

O dano causado aos tecidos do corpo dispara uma resposta defensiva local chamada de **inflamação**, outro componente da segunda linha de defesa (veja a Figura 16.1). O dano pode ser causado por uma infecção microbiana, por agentes físicos (como calor, energia radiante, eletricidade ou objetos pontiagudos) ou por agentes químicos (ácidos, bases e gases). Geralmente, a inflamação é caracterizada por quatro sinais e sintomas: *dor*, *calor*, *rubor* e *tumor*. Algumas vezes, um quinto sintoma, a *perda de função*, está presente; sua ocorrência depende do local e da extensão do dano.

Se a causa de uma inflamação for removida em um período relativamente curto, a resposta inflamatória será intensa, sendo referida como *inflamação aguda*. Um exemplo é a resposta a um furúnculo causado por *S. aureus*. Se, em vez disso, a causa de uma inflamação for difícil ou impossível de ser removida, a resposta inflamatória será mais duradoura, porém menos intensa (embora em geral mais destrutiva). Esse tipo de inflamação é referido como *inflamação crônica*. Um exemplo é a resposta à tuberculose, causada por *M. tuberculosis*.

A inflamação tem as seguintes funções: (1) destruir o agente causador, se possível, e removê-lo do corpo com seus derivados; (2) caso a destruição não seja possível, limitar os efeitos no corpo por confinamento ou limitação do agente causador e de seus derivados; e (3) reparar ou substituir o tecido afetado pelo agente causador ou seus derivados.

Durante os estágios iniciais da inflamação, estruturas microbianas como a flagelina, o lipopolissacarídeo (LPS) e o DNA bacteriano estimulam os TLRs dos macrófagos a produzirem citocinas, como o fator de necrose tumoral α (TNF-α, de *tumor necrosis factor* α). Em resposta ao TNF-α liberado no sangue, o fígado passa a sintetizar um grupo de proteínas chamadas de **proteínas de fase aguda**; outras proteínas de fase aguda estão presentes no sangue na forma inativa, sendo convertidas na forma ativa durante a inflamação. As proteínas de fase aguda induzem respostas locais e sistêmicas que incluem a proteína C reativa, lecitinas que se ligam à manose (página 467), e muitas outras proteínas especializadas, como o fibrinogênio para a coagulação sanguínea e a cinina para a vasodilatação.

Todas as células envolvidas na inflamação apresentam receptores para o TNF-α, sendo por ele ativadas para produzirem mais de seu próprio TNF-α. Isso amplifica a resposta inflamatória. Infelizmente, a produção excessiva de TNF-α pode resultar em distúrbios inflamatórios, como a artrite reumatoide e a doença de Crohn. No Capítulo 18 (página 507), você verá que os anticorpos monoclonais são usados terapeuticamente para tratar esses distúrbios inflamatórios.

Para nossa discussão, dividiremos o processo da inflamação em três estágios: vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, migração de fagócitos e fagocitose e reparo tecidual.

Vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular

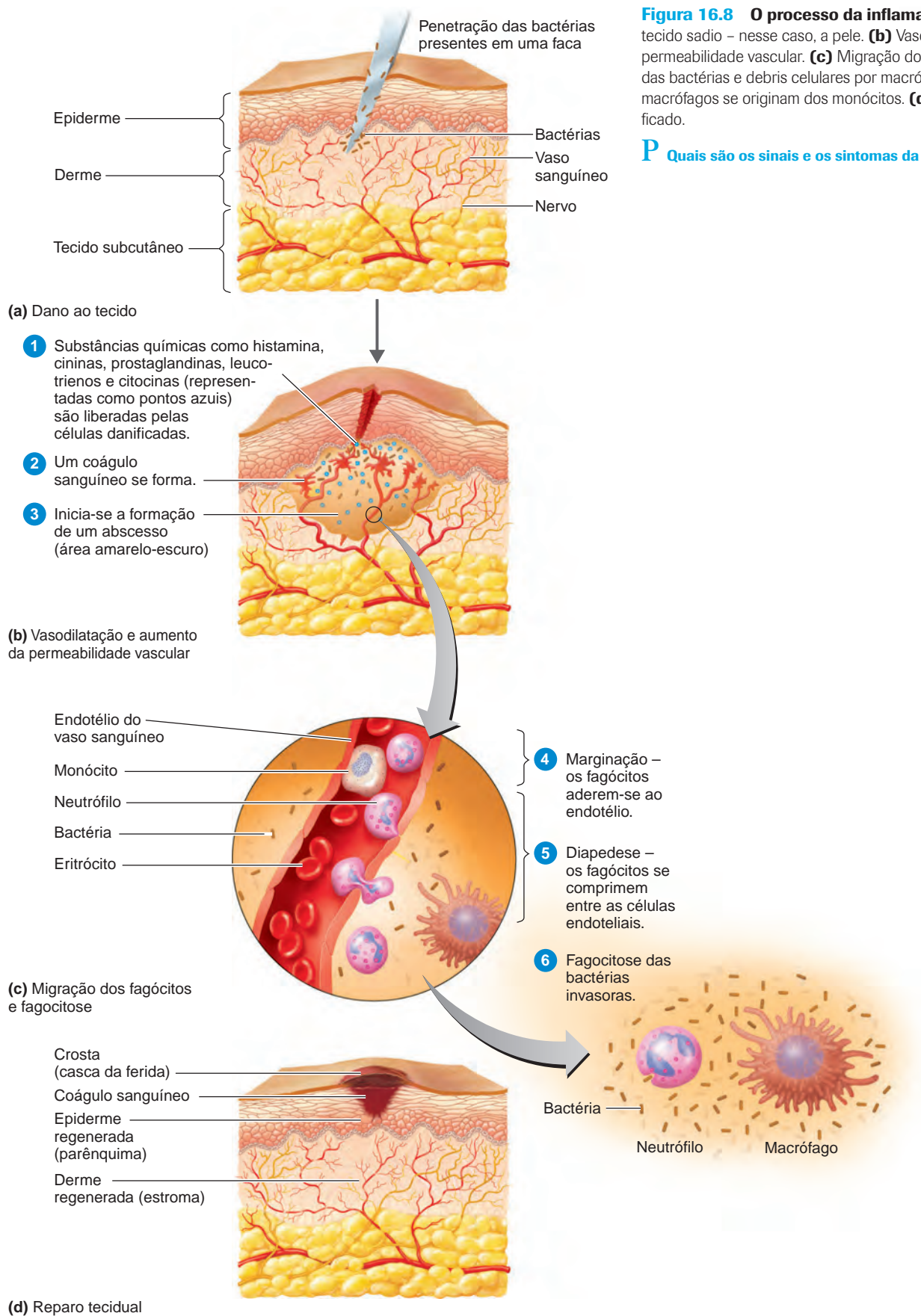
Imediatamente após uma lesão tecidual, os vasos sanguíneos se dilatam (aumentam o diâmetro) na área do dano e sua permeabilidade aumenta (**Figuras 16.8a** e **16.8b**). A dilatação dos vasos sanguíneos, chamada de **vasodilatação**, aumenta o fluxo de sangue para a área afetada e é responsável pelo rubor (eritema) e pelo calor associados com a inflamação.

O **aumento da permeabilidade** permite que as substâncias defensivas normalmente retidas no sangue atravessem as paredes dos vasos sanguíneos e cheguem até a área da lesão. O aumento da permeabilidade, que permite ao fluido se mover do sangue para os espaços no tecido, é responsável pelo **edema** (acúmulo de fluido) da inflamação. A dor na inflamação pode ser causada por dano ao nervo, irritação por toxinas ou pressão do edema.

❶ A vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular são causados por vários químicos liberados pelas células danificadas em resposta a um trauma. Uma dessas substâncias é a **histamina**, presente em muitas células do corpo, sobretudo em mastócitos no tecido conjuntivo, basófilos circulantes e plaquetas. Como uma resposta direta a uma lesão, a histamina é liberada pelas células que a contêm; ela também é liberada em resposta à estimulação por certos componentes do sistema de complemento (discutido mais adiante). Granulócitos fagocíticos atraídos para o local da lesão também podem produzir substâncias que causam a liberação da histamina.

As **cininas** constituem outro grupo de substâncias que causam a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular. As cininas estão presentes no plasma sanguíneo e, uma vez ativadas, desem-

Figura 16.8 O processo da inflamação. (a) Dano a um tecido sadio – nesse caso, a pele. **(b)** Vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. **(c)** Migração dos fagócitos e fagocitose das bactérias e debris celulares por macrófagos e neutrófilos. Os macrófagos se originam dos monócitos. **(d)** Reparo do tecido danificado.

P Quais são os sinais e os sintomas da inflamação?

penham uma função importante na quimiotaxia, atraindo granulócitos fagocíticos, principalmente neutrófilos, até a área da lesão.

As **prostaglandinas**, substâncias liberadas pelas células danificadas, intensificam os efeitos da histamina e das cininas e ajudam os fagócitos a se moverem através das paredes dos capilares. Os **leucotrienos** são substâncias produzidas pelos mastócitos (células muito numerosas no tecido conjuntivo da pele, no sistema respiratório e nos vasos sanguíneos) e basófilos. Os leucotrienos causam o aumento da permeabilidade vascular e ajudam a atrair os fagócitos até os patógenos. Vários componentes do sistema de complemento estimulam a liberação de histamina, atraem os fagócitos e promovem a fagocitose.

Os macrófagos fixos ativados também produzem **citocinas**, que causam a vasodilatação e o aumento da permeabilidade. A vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular também ajudam a liberar os elementos da coagulação sanguínea para a área danificada. ❷ O coágulo sanguíneo que se forma ao redor do local de atividade permite que o micróbio (ou suas toxinas) se espalhe para outras partes do corpo. ❸ Como consequência, pode haver acúmulo de **pus**, uma mistura de células mortas e fluidos corporais, em uma cavidade formada pela degradação do tecido. Esse foco de infecção é chamado de **abscesso**. Abscessos comuns incluem pústulas e furúnculos.

O estágio seguinte da inflamação envolve a migração dos fagócitos para a área da lesão.

Migração de fagócitos e fagocitose

Geralmente, em uma hora após o início do processo de inflamação, os fagócitos entram em cena (**Figura 16.8c**). ❹ Como o fluxo de sangue diminui gradualmente, os fagócitos (neutrófilos e monócitos) começam a se aderir à superfície interna do endotélio (revestimento interno) dos vasos sanguíneos. Esse processo de adesão em resposta às citocinas locais é chamado de **marginação**. As citocinas alteram as moléculas de adesão celular (CAMs, de *cellular adhesion molecules*) nas células que revestem os vasos sanguíneos, fazendo com que os fagócitos se fixem no local da inflamação. (A marginação tem participação também na medula óssea vermelha, onde as citocinas podem liberar fagócitos na circulação quando forem necessários.) ❺ Então, os fagócitos acumulados começam a se comprimir entre as células endoteliais dos vasos sanguíneos para alcançar a área de lesão. Essa migração, que se assemelha ao movimento ameboide, é chamada de **diapedese**; o processo migratório dura apenas cerca de dois minutos. ❻ Os fagócitos então começam a destruir os micro-organismos invasores pela fagocitose.

Como mencionado anteriormente, certas substâncias químicas atraem os neutrófilos para o local da lesão (quimiotaxia). Essas substâncias incluem compostos químicos produzidos por micro-organismos e mesmo por outros neutrófilos; outras substâncias são as cininas, leucotrienos, quimiocinas e componentes do sistema de complemento. Quimiocinas são citocinas que são quimiotáticas para os fagócitos e as células T e, dessa forma, estimulam a resposta inflamatória e a resposta imune adaptativa. A disponibilidade de um fluxo constante de neutrófilos é garantida pela produção e liberação de mais granulócitos oriundos da medula óssea vermelha.

À medida que a resposta inflamatória constinua, os monócitos acompanham os granulócitos até a área infectada. Depois que os monócitos já estiverem confinados no tecido, eles sofrem mudanças em suas propriedades biológicas, tornando-se macrófagos livres. Os granulócitos predominam nos estágios iniciais da infecção, mas tendem a morrer rapidamente. Os macrófagos aparecem durante um estágio posterior da infecção, depois que os granulócitos desempenharam suas funções. Eles são muito mais fagocíticos que os granulócitos e são grandes o suficiente para fagocitar o tecido e os granulócitos que tenham sido destruídos, assim como os micro-organismos invasores.

Após os granulócitos ou macrófagos terem engolfado grandes quantidades de micro-organismos e tecido danificado, eles finalmente morrem. Como consequência, forma-se pus, e sua formação geralmente continua até que a infecção diminua. Às vezes, o pus é pressionado para a superfície do corpo ou para dentro da cavidade interna para dispersão. Em outras ocasiões, o pus pode permanecer mesmo que a infecção tenha terminado. Nesse caso, o pus é gradualmente destruído durante um período de dias, sendo absorvido pelo corpo.

Mesmo a fagocitose sendo efetiva em contribuir para a resistência inata, há ocasiões em que o mecanismo torna-se menos funcional em resposta a certas condições. Por exemplo, alguns indivíduos nascem com uma incapacidade de produzir fagócitos. Com a idade, há um declínio progressivo na eficiência da fagocitose. Pessoas que receberam transplantes de rim ou coração apresentam defesas inatas produzidas como resultado da administração de drogas que impedem a rejeição do transplante. Os tratamentos com radiação também podem suprimir as respostas imunes ao lesar a medula óssea vermelha. Até mesmo certas doenças como a Aids e o câncer podem causar o funcionamento inadequado das defesas inatas.

Reparo tecidual

O estágio final da inflamação é o reparo tecidual, o processo pelo qual os tecidos substituem as células mortas ou danificadas (**Figura 16.8d**). O reparo inicia durante a fase ativa da inflamação, porém não pode ser terminado até que todas as substâncias nocivas tenham sido removidas do local da lesão. A capacidade de um tecido de se regenerar ou de ser reparado depende do tipo de tecido. Por exemplo, a pele tem uma alta capacidade de regeneração, enquanto o tecido muscular cardíaco não apresenta essa mesma capacidade.

Um tecido é reparado quando o seu estroma ou parênquima produz novas células. O *estroma* é o tecido conjuntivo de sustentação, e o *parênquima* é a parte funcional do tecido. Por exemplo, a cápsula que envolve e protege o fígado é parte do estroma, pois não está envolvida nas funções do fígado; as células hepáticas (os hepatócitos) que realizam as funções do fígado são parte do parênquima. Se apenas as células do parênquima fossem ativas durante o reparo, ocorreria uma reconstrução perfeita ou quase perfeita do tecido. Um exemplo comum de reconstrução perfeita é um corte pequeno na pele, no qual as células do parênquima são mais ativas no reparo. Entretanto, se as células de reparo do estroma da pele fossem mais ativas, haveria a formação de uma cicatriz.

Como observado anteriormente, alguns germes apresentam vários mecanismos que permitem que escapem da fagocitose. Tais germes frequentemente induzem uma resposta inflamatória crônica, que pode resultar em dano significativo aos tecidos do corpo. A característica mais significativa da inflamação crônica é o acúmulo e a ativação de macrófagos na área infectada. As citocinas liberadas pelos macrófagos ativados induzem os fibroblastos do estroma a sintetizarem as fibras colágenas. Essas fibras se agregam para formar a cicatriz, um processo chamado de *fibrose*. Pelo fato de a cicatriz não realizar as funções de um tecido saudável, a fibrose pode interferir na função normal desse tecido.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Qual é o propósito da inflamação? **16-12**

✔ O que causa o rubor, o inchaço e a dor associados com a inflamação? **16-13**

✔ O que é marginação? **16-14**

Febre

OBJETIVO DO APRENDIZADO

16-15 Descrever a causa e os efeitos da febre.

A inflamação é uma resposta local do corpo a uma injúria. Existem também respostas sistêmicas ou generalizadas; uma das mais importantes é a **febre**, uma elevação anormal da temperatura corporal, um terceiro componente da segunda linha de defesa (veja a Figura 16.1). A causa mais frequente de febre é a infecção por bactérias (ou por suas toxinas) ou vírus.

A temperatura corporal é controlada por uma parte do cérebro chamada de hipotálamo, algumas vezes denominado termostato corporal, normalmente ajustado para 37°C. Acredita-se que certas substâncias afetem o hipotálamo alterando-o para uma temperatura mais alta. Lembre-se do Capítulo 15 que, quando os fagócitos ingerem bactérias gram-negativas, os lipopolissacarídeos (LPS) da parede celular (endotoxinas) são liberados e induzem os fagócitos a liberarem as citocinas interleucina-1 (antigamente chamada de pirógeno endógeno) e TNF-α. Essas citocinas induzem o hipotálamo a liberar prostaglandinas, que reajustam o termostato hipotalâmico para uma temperatura mais alta, resultando assim em febre (veja a Figura 15.6, página 438).

Imagine que o corpo seja invadido por patógenos e que o ajuste do termostato seja aumentado para 39°C. Para ajustar a nova programação termostática, o corpo responde constringindo os vasos sanguíneos, aumentando a taxa de metabolismo e produzindo **calafrios**, todos elevando a temperatura corporal. Muito embora a temperatura corporal possa se elevar acima do normal, a pele permanece fria, e os calafrios ocorrem. Essa condição, chamada de *resfriamento*, é um sinal claro de que a temperatura corporal está aumentando. Quando a temperatura alcança o ponto de ajuste do termostato, o calafrio desaparece. O corpo continuará a manter sua temperatura em 39°C até que as citocinas sejam eliminadas. O termostato então é reajustado para 37°C. À medida que a infecção diminui, mecanismos de perda de calor como a vasodilatação e o suor entram em ação. A pele torna-se quente, e a pessoa começa a suar. Essa fase da febre, chamada de **crise**, indica que a temperatura corporal está diminuindo.

Até certo ponto, a febre é considerada uma defesa contra a doença. A interleucina-1 ajuda a estabelecer a produção de células T. A alta temperatura corporal intensifica o efeito dos antivirais interferons (página 468) e aumenta a produção das transferrinas, que diminuem o ferro disponível para os micro-organismos (página 470). Além disso, uma vez que a alta temperatura acelera as reações do corpo, ela também pode ajudar a reparar tecidos corporais mais rapidamente.

Entre as complicações da febre estão taquicardia (batimentos cardíacos rápidos), que pode comprometer pessoas mais velhas com doenças cardiopulmonares; taxa metabólica elevada, que pode produzir acidose; desidratação; desequilíbrio eletrolítico; ataques em crianças novas; delírio e coma. Geralmente, pode ocorrer morte se a temperatura corporal estiver acima de 44 a 46°C.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Por que um resfriamento indica que uma febre está para ocorrer? **16-15**

Substâncias antimicrobianas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

16-16 Listar os principais componentes do sistema complemento.

16-17 Descrever as três vias de ativação do complemento.

16-18 Descrever as três consequências da ativação do sistema complemento.

16-19 Definir *interferons*.

16-20 Comparar e contrastar as ações do IFN-α e do IFN-β com as do IFN-γ.

16-21 Descrever o papel das proteínas de ligação ao ferro na imunidade inata.

16-22 Descrever o papel dos peptídeos antimicrobianos na imunidade inata.

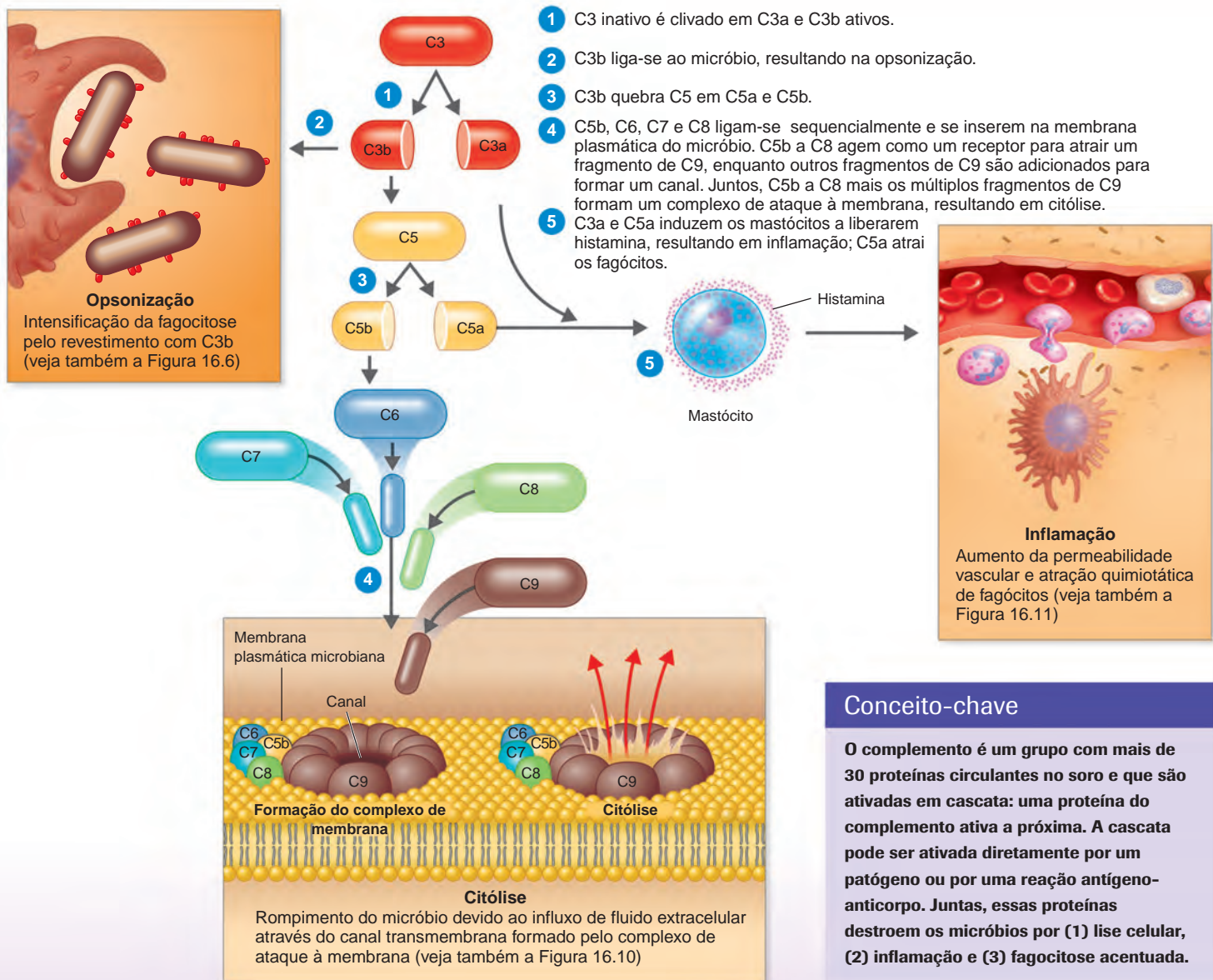
Além dos fatores químicos mencionados anteriormente, o corpo produz certas substâncias antimicrobianas, um componente final da segunda linha de defesa (veja a Figura 16.1). Entre os componentes mais importantes estão as proteínas do sistema complemento, os interferons, as proteínas de ligação ao ferro e os peptídeos antimicrobianos.

Sistema complemento

O **sistema complemento** é um sistema defensivo que consiste em mais de 30 proteínas produzidas pelo fígado e encontradas em circulação no soro sanguíneo (veja o quadro na página 467) e nos tecidos por todas as partes do corpo. O sistema complemento é assim chamado porque "complementa" as células do sistema imune inato para a destruição dos micróbios. O sistema complemento não é adaptável e não muda ao longo da vida de uma pessoa; por essas razões, ele pertence ao sistema imune inato. Entretanto, ele pode ser recrutado e ativado pelo sistema imune adaptativo. Juntas, as

Figura 16.9

FIGURA FUNDAMENTAL Consequências da ativação do complemento

O sistema complemento é outra maneira do corpo combater infecções e destruir patógenos. Esse componente da imunidade inata "complementa" outras reações imunes descritas neste e nos capítulos seguintes.

proteínas do sistema complemento destroem os micróbios por (1) citólise, (2) inflamação e (3) fagocitose e também impedem danos excessivos aos tecidos do hospedeiro. As proteínas do complemento geralmente são designadas por uma letra C maiúscula e são inativas até serem clivadas em fragmentos (produtos). As proteínas são numeradas de C1 a C9, nomeadas pela ordem em que foram descobertas. Os fragmentos são proteínas ativas e são indicados pelas letras *a* e *b* minúsculas. Por exemplo, a proteína C3 inativa do complemento é processada em dois fragmentos ativos, C3a e C3b. Os fragmentos ativos desempenham as ações destrutivas das proteínas C1 a C9 do complemento.

As proteínas do complemento agem em uma *cascata*, isto é, uma reação dispara outra, que então dispara outra, e assim por diante. Ainda, como parte da cascata, mais produtos são formados a cada reação subsequente, de modo que o efeito é amplificado várias vezes à medida que a reação prossegue.

O resultado da ativação do complemento

A proteína C3 pode ser ativada por três mecanismos que serão descritos em breve. A ativação de C3 (**Figura 16.9**) é muito importante, pois inicia uma cascata que resulta em citólise, inflamação e fagocitose.

1. A proteína C3 inativa é processada em C3a e C3b ativas.
2. C3b liga-se à superfície de um micróbio, e os receptores dos fagócitos ligam C3b. Dessa maneira, C3b intensifica a *fagocitose* recobrindo o micróbio, um processo chamado de *opsonização*, ou *aderência imune*. A opsonização promove a fixação de um fagócito ao micróbio.
3. C3b também inicia uma série de reações que resultam em citólise. Primeiramente, C3b processa C5 em C5b e C5a. Os fragmentos C5b, C6, C7 e C8 ligam-se simultaneamente e em sequência e se inserem na membrana plasmática da célula invasora (micróbio invasor). C5b a C8 agem como um receptor para atrair um fragmento de C9. Outros fragmentos de C9 são adicionados para formar um canal transmembrana. Juntos, C5b a C8 mais os múltiplos fragmentos de C9 formam o **complexo de ataque à membrana** (**MAC**, de *membrane attack complex*).
4. Os canais transmembrana (aberturas) do MAC resultam em *citólise*, o rompimento da célula microbiana devido ao influxo de fluido extracelular através dos canais (**Figura 16.10**).
5. C3a e C5a ligam-se aos mastócitos e os induzem a liberarem histamina e outras substâncias que aumentam a permeabilidade vascular durante a *inflamação* (**Figura 16.11**). C5a também funciona como um fator quimiotático muito potente que atrai fagócitos para o local de infecção.

As bactérias que não são mortas pelo MAC são conhecidas como *MAC-resistentes*.

Figura 16.10 Citólise causada pelo complemento. Micrografias de uma bactéria em forma de bastonete antes (esquerda) e depois (direita) da citólise. *Fonte*: Reimpressa de Schreiber R.D. et al. "Bactericidal activity of the Alternative Complement Pathway Generated from 11 Isolated Plasma Proteins". *Journal of Experimental Medicine* 149:870-882, 1979.

P Como o complemento ajuda no combate às infecções?

A membrana plasmática das células hospedeiras contém proteínas que protegem contra a lise ao impedirem a fixação das proteínas do MAC em sua superfície. Além disso, o MAC constitui a base para os testes de fixação do complemento utilizados no diagnóstico de algumas doenças. Isso é explicado no quadro da página 467 e no Capítulo 18 (veja a Figura 18.10, página 514). Bactérias gram-negativas são mais suscetíveis à citólise, pois apresentam apenas uma ou poucas camadas de peptideoglicano para proteger a membrana plasmática contra os efeitos do complemento. As várias camadas de peptideoglicano das bactérias gram-positivas restringem o acesso do complemento à membrana plasmática, interferindo assim com a citólise.

Figura 16.11 Inflamação estimulada pelo complemento. **(a)** C3a e C5a ligados a mastócitos, basófilos e plaquetas disparam a liberação de histamina, que por sua vez aumenta a permeabilidade vascular. **(b)** C5a funciona como um fator quimiotático que atrai fagócitos para o local de ativação do complemento.

P De que modo o complemento é inativado?

1 C1 é ativado pela ligação aos complexos antígeno-anticorpo.

2 C1 ativado cliva C2 em C2a e C2b, assim como C4 em C4a e C4b.

3 C2a e C4b se combinam e ativam C3, fragmentando-o em C3a e C3b (veja também a Figura 16.9).

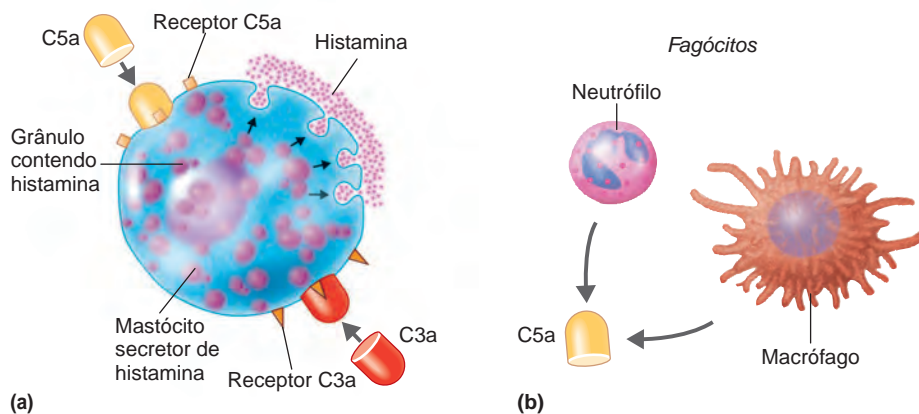
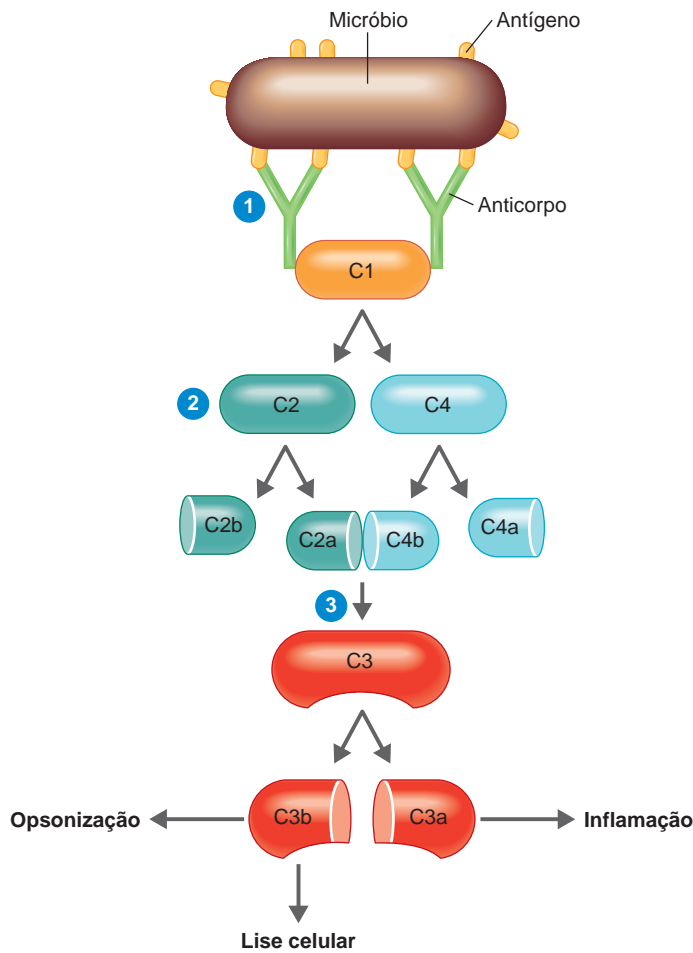



Figura 16.12 Via clássica de ativação do complemento. Essa via é iniciada por uma reação antígeno-anticorpo. O processamento de C3 em C3a e C3b inicia uma cascata que resulta em citólise, inflamação e opsonização (veja também a Figura 16.9).

P O que acontece depois que C3 é fragmentado em C3a e C3b?

1 C3 se combina com os fatores B, D e P na superfície de um micróbio.

2 Isso provoca a clivagem de C3 nos fragmentos C3a e C3b.

Figura 16.13 Via alternativa de ativação do complemento. Essa via é iniciada pelo contato entre determinadas proteínas do complemento (C3 e os fatores B, D e P) e o patógeno. Não ocorre o envolvimento de anticorpos. Uma vez C3a e C3b são formados, eles participam na citólise, na inflamação e na opsonização pela via clássica (veja também a Figura 16.9).

P Em que aspectos a via alternativa e a via clássica são semelhantes?

A cascata de proteínas do complemento que acontece durante uma infecção é chamada de **ativação do complemento** e pode ocorrer em três vias.

Via clássica

A **via clássica** (Figura 16.12), assim chamada porque foi a primeira a ser descoberta, é iniciada quando os anticorpos se ligam aos antígenos (micróbios). O modo como ela ocorre é descrito a seguir:

1 Os anticorpos fixam aos antígenos (p. ex., proteínas ou polissacarídeos grandes na superfície de uma bactéria ou outra célula), formando complexos antígeno-anticorpo. Os complexos antígeno-anticorpo ligam e ativam C1.

2 Em seguida, C1 ativado processa C2 e C4, ativando-os. C2 é processado em fragmentos chamados de C2a e C2b, enquando C4 é processado em fragmentos chamados de C4a e C4b.

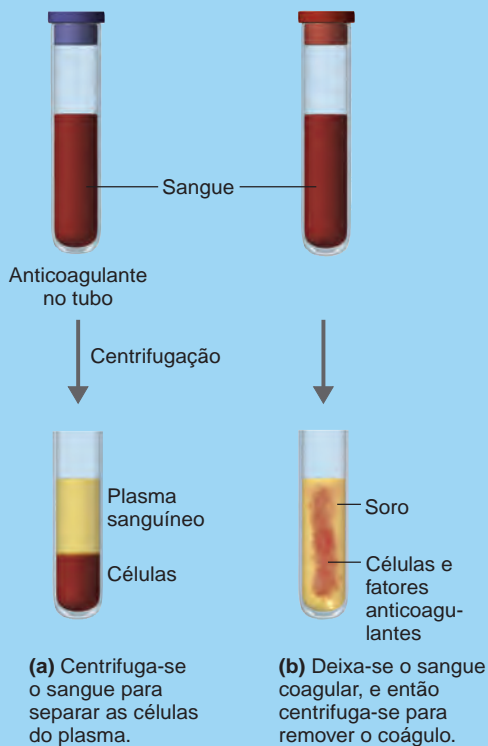
3 C2a e C4b se combinam e juntos ativam C3 pelo processamento a C3a e C3b. O fragmento C3 então inicia a lise celular, a inflamação e a opsonização (veja a Figura 16.9).

Via alternativa

A **via alternativa** é assim chamada porque foi descoberta depois da via clássica e, diferente dela, não envolve anticorpos. A via alternativa é ativada pelo contato entre certas proteínas do complemento e um patógeno (Figura 16.13). 1 C3 está presente constantemente no sangue. Sobre a superfície de um micróbio patogênico, C3 se combina com proteínas do complemento chamadas de fator B, fator D e fator P (properdina). As proteínas do complemento são atraídas para um material presente na superfície da célula microbiana (principalmente complexos lipídeo-carboidrato de certas bactérias e fungos). 2 Uma vez que as proteínas do complemento tenham se combinado e interagido, C3 é clivado nos fragmentos C3a e C3b.

Coleta de soro

É comum obter mais de uma amostra de sangue para testes laboratoriais. O sangue é coletado em tubos com tampas de cores diferentes (**Figura A**). A quantidade total pode ser necessária para a cultura de micróbios ou para determinar o tipo sanguíneo. O soro pode ser necessário para testar enzimas ou outras substâncias químicas do sangue, sendo o líquido cor de palha que permanece depois que o sangue coagula. O plasma sanguíneo é o líquido que permanece depois que os elementos celulares são removidos do sangue não coagulado por centrifugação, por exemplo.

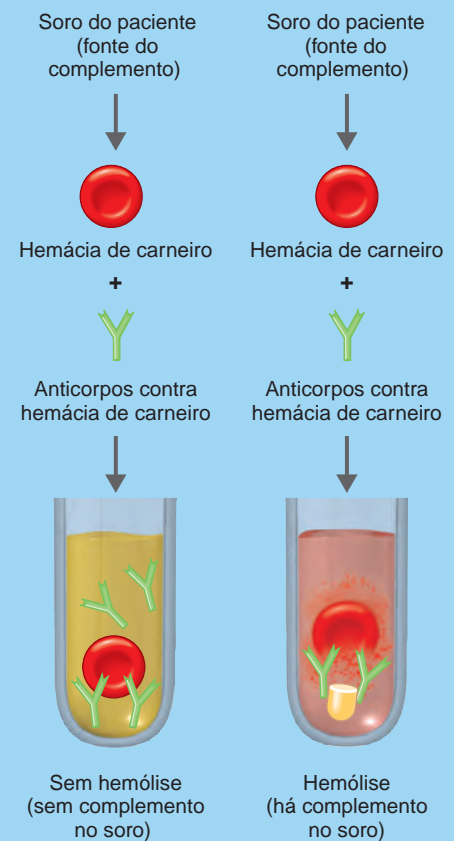
Figura A Coleta de células e soro do sangue.

Que amostra você usaria para contar as células do sangue? E para os testes de complemento?

A atividade do complemento é medida, pois a deficiência do complemento pode estar associada a infecções bacterianas recorrentes. Além disso, o complemento é o componente-chave das doenças imunocomplexas. Uma diminuição do complemento no soro, que ocorre quando é utilizado nos complexos imunes, pode ser usada para monitorar o progresso e o tratamento de doenças imunocomplexas, como lúpus eritematoso e artrite reumatoide.

A atividade total do complemento é medida como mostrado na **Figura B**. Diluições do soro do paciente são misturadas com hemácias de carneiro e anticorpos contra essas hemácias. Após incubação a 37°C por 20 minutos, determina-se o grau de hemólise.

Qual é a finalidade das hemácias e dos anticorpos anti-hemácias de carneiro?

Os anticorpos reagirão com o antígeno (hemácias). Isso ativará o complemento no soro do paciente. O grau de lise é relativo à quantidade de complemento presente, sendo expresso pela porcentagem de hemólise produzida por um *pool* de soro coletado de 50 doadores de sangue sadios.

Figura B Teste do complemento.

Como na via clássica, C3a participa na inflamação, enquanto C3b age na citólise e na opsonização (veja a Figura 16.9).

Via da lecitina

A **via da lecitina** é o mecanismo de ativação do complemento descoberto mais recentemente. Quando os macrófagos ingerem por fagocitose bactérias, vírus e outros materiais estranhos, eles liberam citocinas que estimulam o fígado a produzir **lecitinas**, proteínas que se ligam a carboidratos (**Figura 16.14**).

1. Uma dessas lecitinas, a lecitina de ligação à manose (MBL, de *mannose-binding lectin*), liga-se ao carboidrato manose. A

1 Lecitina se liga à célula invasora.

2 Lecitina ligada cliva C2 e C4.

3 C2a e C4b se combinam e ativam C3 (veja também a Figura 16.9).

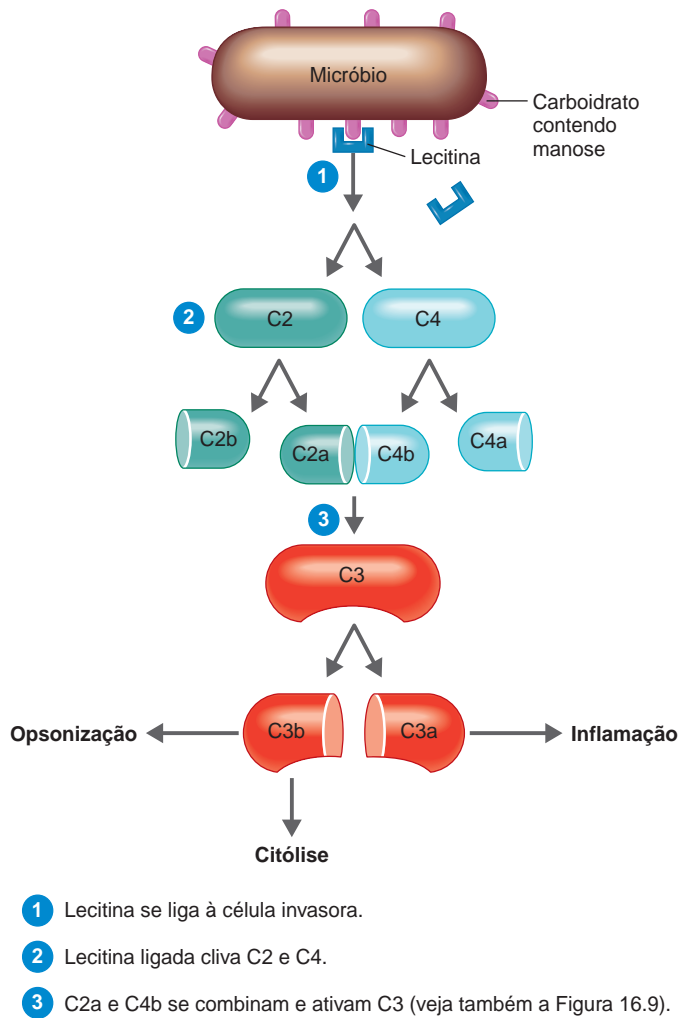



Figura 16.14 Via da lecitina de ativação do complemento. Quando lecitinas de ligação à manose (MBLs) se ligam à manose na superfície dos micróbios, a MBL funciona como uma opsonina que intensifica a fagocitose e ativa o complemento (veja a Figura 16.9).

P Em que a via da lecitina e a via alternativa diferem da via clássica?

MBL se liga a muitos patógenos, pois as moléculas de MBL reconhecem um padrão distinto de carboidratos que inclui a manose, encontrada na parede celular bacteriana e em alguns vírus. Como consequência dessa ligação, a MBL funciona como uma opsonina para intensificar a fagocitose, e

2 C2 e C4 são ativados;

3 C2a e C4b ativam C3 (veja a Figura 16.9).

Regulação do complemento

Uma vez que o complemento esteja ativado, suas capacidades destrutivas em geral terminam rapidamente para minimizar a destruição das células hospedeiras. Isso é realizado por várias proteínas reguladoras do sangue do hospedeiro e de certas células, como as células sanguíneas. As proteínas reguladoras estão presentes em concentrações mais altas que as proteínas do complemento. Um exemplo é a proteína reguladora CD59, que impede a montagem da molécula C9 para formar o MAC. As proteínas causam o funcionamento inadequado do complemento ativado e atuam como inibidores e enzimas destrutivas.

Complemento e doença

Além de sua importância na defesa, o sistema complemento desempenha uma função na causa de doenças como consequência de deficiências herdadas. As deficiências de C1, C2 ou C4 causam distúrbios vasculares do colágeno, que resultam em hipersensibilidade (anafilaxia); a deficiência de C3, embora rara, resulta em suscetibilidade aumentada a infecções recorrentes de micróbios piogênicos; os defeitos de C5 a C9 resultam em suscetibilidade aumentada às infecções causadas por *Neisseria meningitidis* e *N. gonorrhoeae*. O complemento pode desempenhar uma função com um componente imune como a asma, o lúpus eritematoso sistêmico e a doença inflamatória intestinal. O complemento tem ainda participação na doença de Alzheimer e em outras doenças neurodegenerativas.

Evasão do sistema complemento

Algumas bactérias escapam do sistema por suas cápsulas, que impedem a ativação do complemento. Por exemplo, algumas cápsulas contêm grandes quantidades de uma substância chamada de ácido siálico, que impede a opsonização e a formação do MAC. Outras cápsulas inibem a formação de C3b e C4b e recobrem o C3b, impedindo-o de fazer contato com o receptor nos fagócitos. Algumas bactérias gram-negativas, como a *Salmonella*, podem alongar o polissacarídeo O de seu LPS (veja a página 87), o que impede a formação do MAC. Outras bactérias gram-negativas, como *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis* e *Haemophilus influenzae*, fixam seus ácidos siálicos ao lipídeo A de seu LPS, o que basicamente inibe a formação do MAC. Cocos gram-postivos liberam uma enzima que interrompe a função de C5a, o fragmento que serve como fator quimiotático para atrair fagócitos. Em relação aos vírus, alguns, como o vírus Epstein-Barr, se fixam aos receptores do complemento das células do organismo para iniciar seu ciclo de vida.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que é complemento? **16-16**
- ✓ Liste os passos de ativação do complemento pela (1) via clássica, (2) via alternativa e (3) via da lecitina. **16-17**
- ✓ Resuma as principais consequências da ativação do complemento. **16-18**

Interferons

Devido ao fato de que os vírus dependem de suas células hospedeiras, que proporcionam muitas das funções de multiplicação viral, é difícil inibir a multiplicação viral sem afetar a própria célula hospedeira. Um modo pelo qual o hospedeiro infectado age contra as infecções virais é por uma família de citocinas chamada de interferons. Os **interferons (IFNs)** são uma classe de proteínas antivirais produzidas por determinadas células animais como linfócitos e

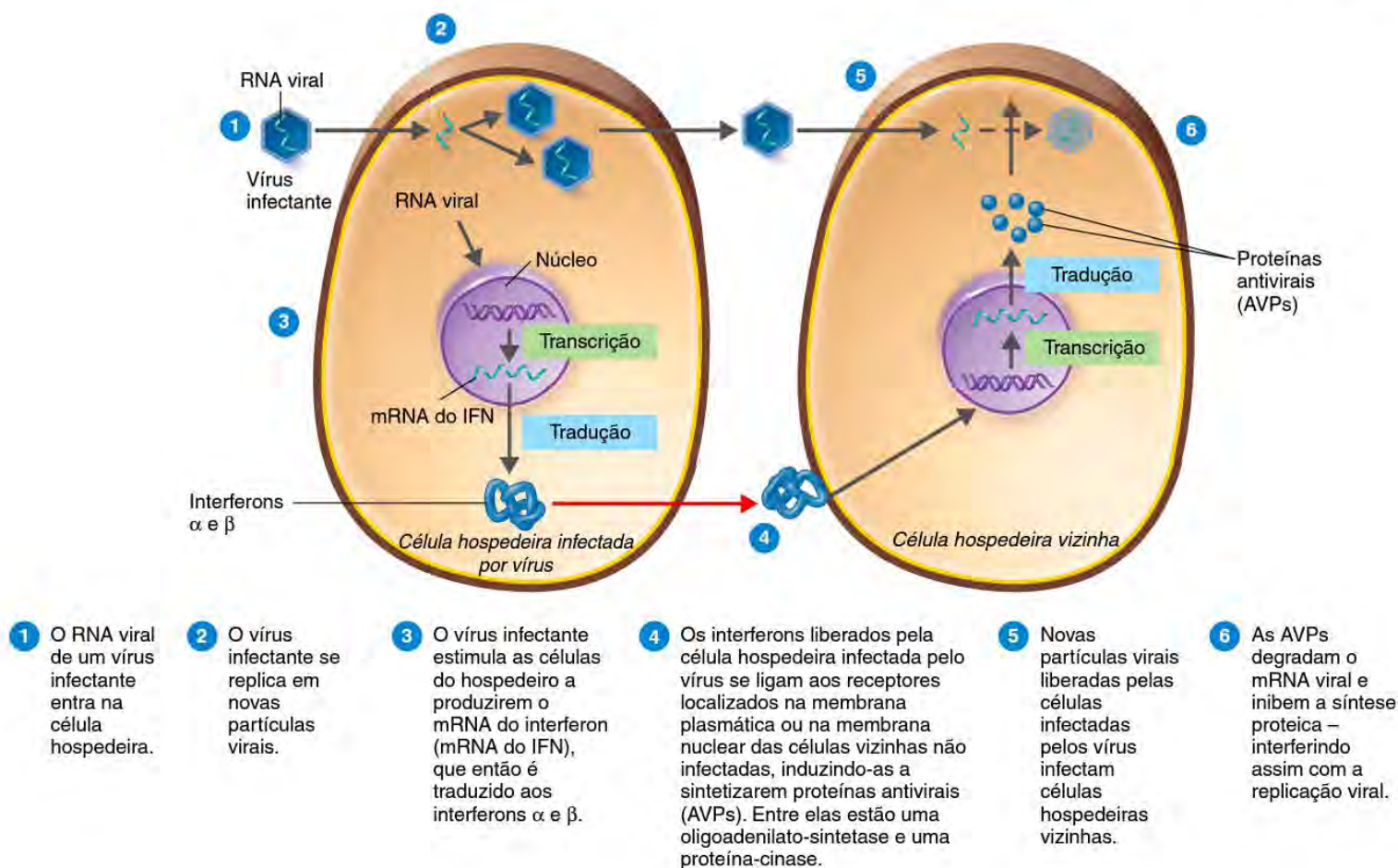



Figura 16.15 Ação antiviral dos interferons (IFNs) α e β. Os interferons são células hospedeiro-específicas, mas não vírus-específicas.

P Como o interferon detém os vírus?

macrófagos logo após a estimulação viral. Uma das principais funções dos interferons é interferir com a multiplicação viral.

Uma característica interessante dos interferons é que eles são hospedeiro-específicos, mas não vírus-específicos. Os interferons produzidos por células humanas protegem essas células, porém induzem pouca atividade antiviral em células de outras espécies, como em camundongos e galinhas. Entretanto, os interferons de uma espécie são ativos contra vários vírus diferentes.

Do mesmo modo que diferentes espécies animais produzem interferons diferentes, tipos celulares distintos no mesmo animal produzem interferons diferentes. Existem três tipos principais de interferons humanos: o *interferon* α (IFN-α), o *interferon* β (IFN-β) e o *interferon* γ (IFN-γ). Há também vários subtipos de interferons dentro dos principais grupos. No corpo humano, os interferons são produzidos pelos fibroblastos do tecido conjuntivo, por linfócitos e outros leucócitos. Cada um dos três tipos de interferons produzidos por essas células pode ter efeitos ligeiramente distintos no corpo.

Todos os interferons são proteínas pequenas com peso molecular entre 15.000 e 30.000. Essas proteínas são muito estáveis em pH baixo e são razoavelmente resistentes ao calor.

O IFN-γ é produzido pelos linfócitos. Ele induz a morte de bactérias pelos neutrófilos e macrófagos, induzindo também os macrófagos a produzirem óxido nítrico, que parece matar tanto bactérias quanto células tumorais ao inibir a produção de ATP. Em pessoas que apresentam uma condição herdada chamada de doença granulomatosa crônica (CGD, de *chronic granulomatous disease*), os neutrófilos e os macrófagos não matam as bactérias. Quando essas pessoas recebem IFN-γ recombinante, os neutrófilos e os macrófagos passam a matar as bactérias. O IFN-γ não é uma cura, devendo ser administrado por toda a vida de pessoas com CGD. Como você verá no Capítulo 17, o IFN-γ aumenta a expressão das moléculas de classe I e II, além de aumentar a apresentação do antígeno.

Os IFNs α e β são produzidos apenas em pequenas quantidades pelas células infectadas por vírus, se difundindo para as células vizinhas não infectadas (Figura 16.15). Eles interagem com os receptores nas membranas plasmática ou nuclear, induzindo as células não infectadas a produzirem o mRNA para a síntese de **proteínas antivirais** (**AVPs**, de *antiviral proteins*). Essas proteínas são enzimas que interrompem os vários estágios da multipli-

cação viral. Por exemplo, uma AVP chamada de *oligoadenilato-sintetase* degrada o mRNA viral. Outra, uma *proteína-cinase*, inibe a síntese proteica.

Devido a seus efeitos benéficos, os interferons parecem ser substâncias antivirais ideais, porém existem alguns problemas. Por alguma razão, os interferons são eficazes apenas por um curto período e não permanecem estáveis por longos períodos no corpo. Quando injetados, os interferons apresentam efeitos colaterais como náusea, fadiga, dor de cabeça, vômito, perda de peso e febre. Altas concentrações são tóxicas para o coração, o fígado, os rins e a medula óssea vermelha. Tipicamente, eles exercem sua principal função em infecções que são agudas e de curto prazo, como a gripe e o resfriado. Outro problema é que eles não têm efeito sobre a multiplicação viral em células já infectadas. Também, alguns vírus, como os adenovírus (que causam infecções respiratórias), apresentam mecanismos de resistência que inibem as AVPs. Além disso, alguns vírus, como o vírus da hepatite B, não induzem a produção de quantidades suficientes de interferon nas células hospedeiras após a estimulação viral.

A importância dos interferons na proteção do organismo contra os vírus, assim como seu potencial como agentes antitumorais, tem levado à sua produção em larga escala como uma prioridade máxima na saúde. Com sucesso, vários grupos de cientistas têm utilizado a tecnologia do DNA recombinante para induzir determinadas espécies de bactérias a produzirem interferons. (Essa técnica é descrita no Capítulo 9.) Os interferons produzidos com as técnicas do DNA recombinante, chamados de *interferons recombinantes* (*rIFNs*, de *recombinant interferons*), são importantes por duas razões: eles são puros e são abundantes.

Em ensaios clínicos, os IFNs não têm apresentado efeitos contra alguns tipos de tumores e somente efeitos limitados contra outros tipos. O IFN-α (Intron A) foi aprovado nos Estados Unidos para o tratamento de várias doenças associadas aos vírus. Uma delas é o Sarcoma de Kaposi, um câncer que ocorre com frequência em pacientes infectados com HIV. Outros usos aprovados para o IFN-α incluem o tratamento do herpes genital, causado pelo herpesvírus; das hepatites B e C, causadas pelos vírus da hepatite B e C; do melanoma maligno; da doença de Crohn; da artrite reumatoide e da leucemia de células pilosas. O IFN-α também tem sido testado para determinar se pode haver uma desaceleração do desenvolvimento da Aids em pessoas infectadas pelo HIV. Uma formulação de IFN-β (Betaferon) retarda a progressão da esclerose múltipla (EM) e reduz a frequência e a gravidade dos episódios da EM. Outra formulação de IFN-β (Actimmune) tem sido usada para tratar a osteoporose.

Proteínas de ligação ao ferro

Muitas bactérias patogênicas requerem quantidades adequadas de ferro para seu crescimento vegetativo e sua reprodução. Os seres humanos requerem o ferro como componente dos citocromos na cadeia transportadora de elétrons, como cofator para os sistemas enzimáticos e como parte da hemoglobina que transporta o oxigênio no organismo. Assim, temos uma situação interessante na qual os seres humanos e muitos patógenos competem pelo ferro disponível para sua sobrevivência.

A concentração de ferro livre no corpo humano é baixa, pois grande parte está ligada a moléculas como a transferrina, a lactoferrina e a hemoglobina. Essas moléculas são chamadas de **proteínas de ligação ao ferro** e sua função é transportar e estocar o ferro. A **transferrina** é encontrada no sangue e nos fluidos teciduais. A **lactoferrina** é encontrada no leite, na saliva e no muco. A **ferritina** é encontrada no fígado, no baço e na medula óssea. A **hemoglobina** é encontrada nas hemácias. Essas proteínas não só transportam e estocam o ferro, mas também, devido a essas capacidades, privam muitos patógenos do ferro disponível.

Para sobreviver no corpo humano, muitas bactérias patogênicas obtêm o ferro de proteínas secretadas chamadas de **sideróforos** (veja a Figura 15.3, página 434). Lembre-se de que os sideróforos competem para retirar o ferro das proteínas de ligação ao ferro ao se ligarem mais avidamente a ele. Uma vez que o complexo ferro-sideróforo esteja formado, ele é ocupado pelos receptores do sideróforo localizados na superfície da bactéria e levados para dentro dela; então, o ferro é separado do sideróforo e utilizado. (Em alguns casos, o ferro entra na bactéria enquanto o sideróforo permanece fora.)

Alguns patógenos não usam o mecanismo do sideróforo para obter o ferro. Por exemplo, a *Neisseria meningitidis*, o agente causador da meningite, produz receptores em sua superfície que ligam diretamente a proteína de ligação ao ferro. Então, essa proteína, juntamente com o ferro ligado, é levada para dentro da célula bacteriana. Alguns patógenos, como o *Streptococcus pyogenes*, liberam a hemolisina, uma proteína que causa a lise (destruição) de hemácias. A hemoglobina é então degradada por outras proteínas bacterianas para capturar o ferro.

Peptídeos antimicrobianos

Embora descobertos recentemente, os **peptídeos antimicrobianos** (**AMPs**, de *antimicrobial peptides*) podem estar entre os componentes mais importantes da imunidade inata (veja também o Capítulo 20, páginas 578 e 579). Os AMPs são pequenos peptídeos constituídos de uma cadeia de 12 a 50 aminoácidos sintetizados nos ribossomos. Eles foram descobertos inicialmente na pele de rãs, na linfa de insetos e nos neutrófilos humanos; até hoje, mais de 600 AMPs foram descobertos em quase todas as plantas e animais. Os AMPs têm um amplo espectro de atividades antimicrobianas, incluindo atividade contra bactérias, vírus, fungos e parasitas eucariotos. A síntese de AMPs é estimulada por moléculas proteicas e açúcares localizados na superfície dos micróbios. As células produzem AMPs quando os produtos dos micróbios se fixam aos TLRs (veja a página 458).

Os modos de ação dos AMPs incluem a inibição da síntese da parede celular, a formação de poros na membrana plasmática, resultando em lise, e a destruição do DNA e do RNA. Entre os AMPs produzidos pelos seres humanos estão a *dermicidina*, produzida pelas glândulas sudoríparas, as *defensinas* e as *catelicidinas*, produzidas pelos neutrófilos, pelos macrófagos e pelo epitélio, e a *trombocidina*, produzida pelas plaquetas.

Os cientistas estão interessados nos AMPs por várias razões. Além do amplo espectro de atividades, os AMPs têm mostrado sinergismo (trabalho conjunto) com outros agentes antimicrobianos, de modo que o efeito desses componentes ao trabalharem em conjunto é maior que apenas de um ou outro trabalhando individualmente. Os AMPs também são muito estáveis em uma faixa extensa de pH. O que é particularmente significativo

é que os micróbios parecem não desenvolver resistência, mesmo que sejam expostos aos AMPs por um longo período.

Além de seus efeitos fatais, os AMPs participam em várias outras funções imunes. Por exemplo, os AMPs podem sequestrar o LPS liberado de bactérias gram-negativas. Lembre-se de que o lipídeo A, um componente do LPS, funciona como uma endotoxina e é responsável pelos sintomas associados com infecções por bactérias gram-negativas (choque séptico). Tem sido observado que os AMPs atraem as células dendríticas, que destroem os micróbios por fagocitose e iniciam a resposta imune adaptativa. Tem sido demonstrado que os AMPs também recrutam os mastócitos, que por sua vez aumentam a permeabilidade vascular e a vasodilatação. Isso ocasiona em inflamação que destrói os micróbios, limita a extensão do dano e inicia o reparo tecidual.

A **Tabela 16.2** contém um resumo das defesas da imunidade inata.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O que são os interferons? **16-19**
- ✓ Por que o IFN-α e o IFN-β compartilham o mesmo receptor nas células-alvo, enquanto o IFN-γ apresenta um receptor diferente? **16-20**
- ✓ Qual é a função dos sideróforos nas infecções? **16-21**
- ✓ Qual o interesse dos cientistas nos AMPs? **16-22**

* * *

No Capítulo 17, discutiremos os principais fatores que contribuem para a imunidade adaptativa.

Tabela 16.2 Resumo das defesas da imunidade inata

Componente	Funções
PRIMEIRA LINHA DE DEFESA: PELE E MEMBRANAS MUCOSAS	
FATORES FÍSICOS	
Epiderme da pele	Forma uma barreira física contra a entrada dos micróbios.
Membranas mucosas	Inibem a entrada de vários micróbios, porém não são tão eficazes quanto a pele intacta.
Muco	Retém os micróbios nos tratos gastrintestinal e respiratório.
Aparelho lacrimal	As lágrimas diluem e arrastam micróbios e substâncias irritantes.
Saliva	Remove os micróbios das superfícies dos dentes e das membranas mucosas da boca.
Pelos	Removem micróbios e partículas do nariz.
Cílios	Juntamente com o muco, prendem e removem micróbios e partículas do trato respiratório superior.
Epiglote	Impede a entrada de micróbios no trato respiratório inferior.
Urina	Remove os micróbios da uretra.
Secreções vaginais	Retiram os micróbios do trato reprodutor feminino.
Peristalse, defecação e vômito	Expelem os micróbios do corpo.
FATORES QUÍMICOS	
Sebo	Forma um filme protetor de teor ácido sobre a superfície da pele, inibindo o crescimento de vários micróbios.
Lisozima	Enzima que digere o peptideoglicano na perspiração, nas lágrimas, na saliva, nas secreções nasais, na urina e nos fluidos teciduais.
Saliva	Contém lisozima, ureia e ácido úrico, que inibem os micróbios e imunoglobulina A, que previne a fixação de micróbios às membranas mucosas. A ligeira acidez impede o crescimento microbiano.
Suco gástrico	Destrói as bactérias e a maioria das toxinas no estômago.
Urina	Contém lisozima, ureia e ácido úrico, que inibem os micróbios; a ligeira acidez impede o crescimento microbiano.
Secreções vaginais	A ligeira acidez impede o crescimento de bactérias e fungos.

Tabela 16.2 ***(Continuação)***

Componente	Funções
SEGUNDA LINHA DE DEFESA	
Células defensivas	
Fagócitos	Fagocitose por células como neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas e macrófagos.
Células assassinas naturais (células NK)	Matam células-alvo infectadas ao liberarem grânulos contendo perforina e granzimas. Os fagócitos então matam os micróbios infectantes.
Inflamação	Limita e destrói os micróbios e inicia o reparo tecidual.
Febre	Intensifica os efeitos dos interferons, inibe o crescimento de alguns micróbios e acelera as reações no corpo que auxiliam no reparo.
Substâncias antimicrobianas	
Sistema complemento	Causa a citólise de micróbios, promove a fagocitose e contribui para a inflamação.
Interferons	Protegem as células hospedeiras não infectadas da infecção viral.
Proteínas de ligação ao ferro	Inibem o crescimento de determinadas bactérias ao reduzirem a quantidade de ferro disponível.
Peptídeos antimicrobianos (AMPs)	Inibem a síntese da parede celular, formam poros na membrana plasmática, causando lise, e danificam o DNA e o RNA.

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 449)

1. A capacidade de combater as doenças através das defesas do corpo é chamada de imunidade.
2. A falta de imunidade é chamada de suscetibilidade.

Conceito de imunidade (p. 450)

1. A imunidade inata refere-se a todas as defesas do corpo que o protegem contra qualquer tipo de patógeno.
2. A imunidade adaptativa refere-se às defesas (anticorpos) contra micro-organismos específicos.
3. Os receptores do tipo Toll (TLRs) são proteínas localizadas na membrana plasmática de macrófagos e células dendríticas. Eles reconhecem micróbios invasores.

PRIMEIRA LINHA DE DEFESA: PELE E MEMBRANAS MUCOSAS (p. 450-453)

1. A primeira linha de defesa contra as infecções é uma barreira física que possui produtos não específicos da pele e das membranas mucosas.

Fatores físicos (p. 451-452)

1. A estrutura da pele intacta e da queratina, uma proteína à prova d'água, oferece resistência à invasão microbiana.
2. Alguns patógenos podem penetrar as membranas mucosas.
3. O aparelho lacrimal protege os olhos de substâncias irritantes e micro-organismos.
4. A saliva remove os micro-organismos dos dentes e da língua.
5. O muco retém muitos micro-organismos que penetram os tratos respiratório e gastrintestinal; no trato respiratório inferior, o elevador ciliar move o muco para cima e para fora.
6. O fluxo de urina retira os micro-organismos do trato urinário, e as secreções vaginais removem os micro-organismos da vagina.

Fatores químicos (p. 453)

1. O sebo contém ácidos graxos insaturados que inibem o crescimento de bactérias patogênicas. Algumas bactérias frequentemente encontradas na pele podem metabolizar o sebo e causar uma resposta inflamatória associada à acne.
2. A perspiração remove os micro-organismos da pele.
3. A lisozima é encontrada nas lágrimas, na saliva, nas secreções nasais e na perspiração.
4. A acidez elevada (pH 1,2-3,0) do suco gástrico impede o crescimento bacteriano no estômago.

Microbiota normal e imunidade inata (p. 453)

1. A microbiota normal modifica o ambiente, um processo que pode impedir o crescimento de patógenos.

SEGUNDA LINHA DE DEFESA (p. 454-472)

1. A entrada de um micróbios na primeira linha de defesa estimula a produção de fagócitos, a inflamação, a febre e as substâncias antimicrobianas.

Elementos constituintes do sangue (p. 454-456)

1. O sangue consiste em plasma (fluido) e nos elementos constituintes (células e fragmentos celulares).
2. Os leucócitos (células brancas do sangue) são divididos em granulócitos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos e células dendríticas) e agranulócitos.
3. Em muitas infecções, o número de leucócitos aumenta (leucocitose); algumas infecções são caracterizadas por leucopenia (diminuição do número de leucócitos).

Sistema linfático (p. 456, 457)

1. O sistema linfático consiste em vasos linfáticos, linfonodos e tecidos linfoides.
2. O fluido intersticial retorna ao plasma sanguíneo através dos vasos linfáticos.

Fagócitos (p. 457-460)

1. A fagocitose é a ingestão de micro-organismos ou material particulado por uma célula.
2. A fagocitose é realizada pelos fagócitos, por certos tipos de células brancas do sangue ou por seus derivados.

Ações das células fagocíticas (p. 457)

3. Os fagócitos mais importantes entre os granulócitos são os neutrófilos.
4. Os monócitos aumentados tornam-se macrófagos livres e macrófagos fixos.
5. Os macrófagos fixos estão localizados em tecidos específicos e fazem parte do sistema fagocítico mononuclear.
6. Os granulócitos predominam durante os estágios iniciais da infecção, enquanto os monócitos predominam à medida que a infecção diminui.

Mecanismo da fagocitose (p. 458, 459)

7. A quimiotaxia é o processo pelo qual os fagócitos e os micro-organismos se atraem.
8. Os receptores do tipo Toll (TLRs) de um fagócito reconhecem as células microbianas; o reconhecimento pode ser facilitado pela opsonização – cobertura do micróbio com proteínas do soro.
9. Os pseudópodes dos fagócitos engolfam os micro-organismos e os envolvem em um fagossomo para finalizar a digestão.
10. Muitos micro-organismos fagocitados são mortos por enzimas lisossômicas e agentes oxidantes.

Evasão microbiana da fagocitose (p. 459, 460)

11. Alguns micróbios não são mortos e podem até mesmo se reproduzir nos fagócitos.
12. Os mecanismos de evasão incluem proteína M, cápsulas, leucocidinas, complexos de ataque à membrana e prevenção da formação de fagolisossomo.

Inflamação (p. 460-463)

1. A inflamação é uma resposta corporal a uma lesão celular. A inflamação é caracterizada por dor, calor, rubor e edema e, em algumas ocasiões, perda de função.
2. O fator de necrose tumoral α (TNF-α) estimula a produção das proteínas de fase aguda.

Vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular (p. 460-462)

3. A liberação de histamina, cininas e prostaglandinas causa a vasodilatação e o aumento da permeabilidade vascular.
4. Os coágulos sanguíneos podem se formar ao redor de um abscesso, de modo a impedir a disseminação da infecção.

Migração de fagócitos e fagocitose (p.462)

5. Os fagócitos têm a habilidade de se aderir ao revestimento interno dos vasos sanguíneos (marginação).
6. Eles também têm a habilidade de se comprimir entre os vasos sanguíneos (diapedese).
7. O upus é o acúmulo de tecido danificado e micróbios mortos, além de granulócitos e macrófagos.

Reparo tecidual (p. 462, 463)

8. Um tecido é reparado quando o estroma (tecido de sustentação) ou o parênquima (tecido funcional) produz novas células.
9. O reparo pelos fibroblastos de um estroma resulta em cicatriz.

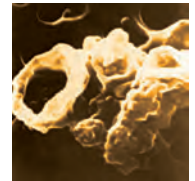
Febre (p. 463)

1. Febre é uma elevação anormal da temperatura corporal produzida em resposta a uma infecção bacteriana ou infecção viral.
2. Endotoxinas bacterianas, interleucina-1 e fator de necrose tumoral α (TNF-α) podem induzir a febre.
3. O resfriamento indica que a temperatura corporal está se elevando. A crise (sudorese) indica que a temperatura corporal está caindo.

Substâncias antimicrobianas (p. 463-472)

Sistema complemento (p. 463-468)

1. O sistema complemento é formado por um grupo de proteínas do soro sanguíneo que ativam uma a outra para destruir os micro-organismos invasores.
2. As proteínas do complemento são ativadas em cascata.

3. A ativação de C3 pode resultar em lise celular, inflamação e opsonização.
4. O complemento é ativado pelas vias clássica, alternativa e da lecitina.
5. O complemento é desativado por proteínas reguladoras do hospedeiro.
6. Deficiências do complemento podem resultar em aumento da suscetibilidade a doenças.
7. Algumas bactérias evitam a destruição pelo complemento por intermédio de cápsulas, complexos carboidrato-lipídeo de superfície e destruição enzimática de C5a.

Interferons (p. 468-470)

8. Os interferons (IFNs) são proteínas antivirais produzidas em resposta a uma infecção viral.
9. Existem três tipos de interferons humanos: IFN-α, IFN-β e IFN-γ. Interferons recombinantes também têm sido produzidos.
10. O modo de ação do IFN-α e do IFN-β é induzir células não infectadas a produzirem proteínas antivirais (AVPs), que impedem a replicação viral.
11. Os interferons são específicos para as células hospedeiras, mas não são específicos para os vírus.

12. O IFN-γ ativa os neutrófilos e os macrófagos para matar bactérias.

Proteínas de ligação ao ferro (p. 470)

13. As proteínas de ligação ao ferro transportam e estocam ferro, privando muitos patógenos do ferro disponível.

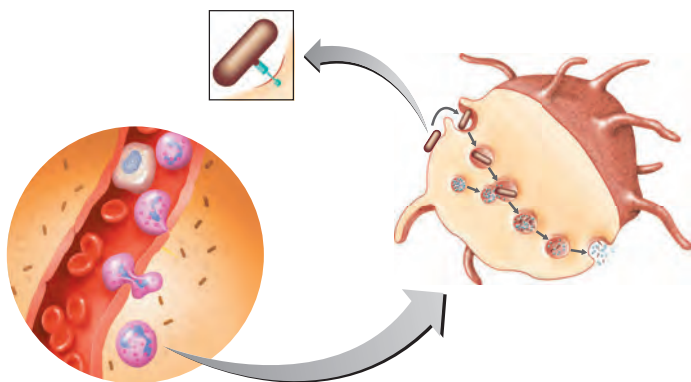
Peptídeos antimicrobianos (p. 470-472)

14. Além de formar poros nas membranas plasmáticas, o que acaba resultando em lise, os peptídeos antimicrobianos (AMPs) inibem a síntese da parede celular e destroem o DNA e o RNA.
15. Os AMPs são produzidos por quase todas as plantas e animais, porém resistência bacteriana aos AMPs ainda não foi observada.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Identifique pelo menos um fator químico e um fator físico que impedem os micróbios de penetrarem o corpo pelo:
   a. Trato urinário.
   b. Trato reprodutivo.
2. **DESENHE** Identifique na figura os seguintes processos que resultam na fagocitose: marginação, diapedese, aderência e formação de fagolisossomo.

3. Defina inflamação e liste suas características.
4. O que são interferons? Discuta suas funções na imunidade inata.
5. Como o sistema complemento pode causar o choque endotóxico?
6. Pacientes com a doença granulomatosa crônica ligada ao cromossomo X são suscetíveis a infecções porque os neutrófilos não geram uma explosão oxidativa. Qual é a relação entre explosão respiratória e infecção?
7. Por que as hemácias são hemolisadas quando uma pessoa recebe transfusão de um tipo sanguíneo incompatível?
8. Dê vários exemplos de como os micróbios podem evitar o sistema complemento.
9. Os componentes a seguir estão envolvidos na imunidade inata ou na imunidade adaptativa? Identifique a função de cada um na imunidade.
   a. TLRs.
   b. Transferrinas.
   c. Peptídeos antimicrobianos.

Múltipla escolha

1. A *Legionella* utiliza os receptores C3b para penetrar nos monócitos. Isso:
   a. Impede a fagocitose.
   b. Degrada o complemento.
   c. Inativa o complemento.
   d. Impede a inflamação.
   e. Impede a citólise.
2. A *Chlamydia* pode impedir a formação dos fagolisossomos. Portanto, a *Chlamydia* pode:
   a. Evitar de ser fagocitada.
   b. Evitar a destruição pelo complemento.
   c. Impedir a aderência.
   d. Evitar de ser digerida.
   e. Nenhuma das alternativas.
3. Se os seguintes termos fossem colocados em ordem de ocorrência, qual seria o *terceiro* passo?
   a. Emigração.
   b. Digestão.
   c. Formação de um fagossomo.
   d. Formação de um fagolisossomo.
   e. Marginação.
4. Se os seguintes termos fossem colocados em ordem de ocorrência, qual seria o *terceiro* passo?
   a. Ativação de C5 a C9.
   b. Lise celular.
   c. Reação antígeno-anticorpo.
   d. Ativação de C3.
   e. Ativação de C2 a C4.
5. Um hospedeiro humano pode impedir que um patógeno obtenha ferro por:
   a. Redução do consumo de ferro na dieta.
   b. Ligação do ferro à transferrina.
   c. Ligação do ferro à hemoglobina.
   d. Excreção do excesso de ferro.
   e. Ligação do ferro aos sideróforos.
6. Uma diminuição na produção de C3 resultaria em:
   a. Aumento da suscetibilidade a infecções.
   b. Aumento do número de células brancas do sangue.
   c. Aumento da fagocitose.
   d. Ativação de C5 a C9.
   e. Nenhuma das alternativas.

7. Em 1884, Elie Metchnikoff observou células sanguíneas que foram coletadas ao redor de uma lasca de um embrião de estrela-do-mar. Essa foi a descoberta de:
   a. Células sanguíneas.
   b. Estrela-do-mar.
   c. Fagocitose.
   d. Imunidade.
   e. Nenhuma das alternativas.
8. *Helicobacter pylori* utiliza a enzima urease para contra-atacar uma defesa química no órgão humano onde ela vive. Essa defesa química é(são):
   a. Lisozima.
   b. Ácido hidroclorídrico.
   c. Radicais superóxido.
   d. Sebo.
   e. Complemento.
9. Qual das seguintes frases sobre o IFN-α *não* é verdadeira?
   a. Interfere com a replicação viral.
   b. É específico para a célula hospedeira.
   c. É liberado por fibroblastos.
   d. É específico para os vírus.
   e. É liberado por linfócitos.
10. Qual dos seguintes termos não estimula a fagocitose?
   a. Citocinas.
   b. IFN-γ.
   c. C3b.
   d. Lipídeo A.
   e. Histamina.

Pensamento crítico

1. Por que os níveis de ferro no soro sanguíneo diminuem durante uma infecção? O que faz uma bactéria responder aos altos níveis de transferrina?
2. Existe uma variedade de drogas disponíveis com a capacidade de reduzir a inflamação. Comente sobre o risco do uso indevido dessas drogas anti-inflamatórias.
3. Para ser um parasita bem-sucedido, o micróbio deve escapar da destruição pelo complemento. A lista a seguir fornece exemplos de técnicas de evasão do complemento. Para cada micróbio, identifique a doença que ele causa e descreva como sua estratégia permite que evite a destruição pelo complemento.

Patógeno	Estratégia
Estreptococo do grupo A	O C3 não se liga à proteína M
Haemophilus influenzae tipo b	Possui uma cápsula
Pseudomonas aeruginosa	Modifica os polissacarídeos da parede celular
Trypanosoma cruzi	Degrada C1

4. A lista a seguir identifica um fator de virulência para cada micro-organismo selecionado. Descreva o efeito de cada fator listado. Dê o nome da doença causada por cada organismo.

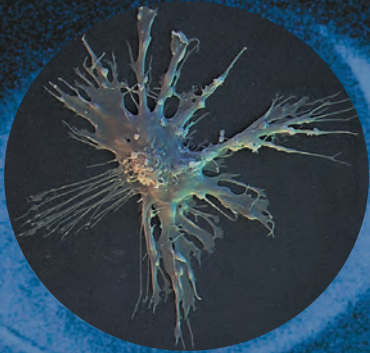
Micro-organismo	Fator de virulência
Influenzavirus	Causa a liberação de enzimas lisossômicas
Mycobacterium tuberculosis	Inibe a fusão do lisossomo
Toxoplasma gondii	Impede a acidificação do fagolisossomo
Tricophyton	Secreta queratinase
Trypanosoma cruzi	Lisa a membrana fagossômica

Aplicações clínicas

1. Pessoas com infecções de garganta e nariz causadas pelo *Rhinovirus* têm um aumento de 80 vezes nas cininas, porém nenhum aumento na histamina. O que você espera dos sintomas dessa infecção pelo rinovírus? Que doença é causada pelos rinovírus?
2. Um hematologista frequentemente faz a contagem diferencial de leucócitos a partir de uma amostra de sangue. Essa contagem determina os números relativos de células brancas do sangue. Por que esses números são importantes? O que você acha que um hematologista encontraria em uma contagem diferencial de leucócitos de um paciente com mononucleose? Com neutropenia? Com eosinofilia?
3. A aderência leucocítica deficitária (LAD, de *leukocyte adherence deficiency*) é uma doença hereditária que resulta na incapacidade dos neutrófilos de reconhecer micro-organismos ligados ao C3b. Quais são as consequências mais prováveis da LAD?
4. Os neutrófilos de pessoas com a síndrome de Chédiak-Higashi (CHS, de *Chédiak-Higashi syndrome*) apresentam uma quantidade de receptores quimiotáticos abaixo do normal, além de lisossomos que se rompem espontaneamente. Quais são as consequências da CHS?
5. Considere o seguinte:
   a. Experimentos em laboratório mostram que lecitinas de plantas podem se ligar à manose da membrana plasmática de células humanas. Por que as lecitinas humanas de ligação à manose não se ligam às células humanas?
   b. Aproximadamente 4% da população humana apresentam deficiência de lecitinas de ligação à manose. De que modo essa deficiência pode afetar uma pessoa?

17 Imunidade Adaptativa: Defesas Específicas do Hospedeiro

No Capítulo 16, discutimos sobre as defesas inatas do corpo contra os micro-organismos do ambiente. Essas defesas incluem a pele e as membranas mucosas, a fagocitose e a inflamação. Os seres humanos, e até mesmo os animais mais simples, apresentam algumas defesas que estão sempre presentes para fornecer proteção imediata contra as infecções. Em geral, essas defesas são designadas **imunidade inata**. Imunidade é um termo derivado da palavra em latim *immunis*, que significa *isentar*. (Para uma revisão dos sistemas de defesa inata do corpo, veja a Figura 16.1, página 450.)

Os animais superiores também são protegidos por uma imunidade adaptativa especializada. A imunidade adaptativa é induzida, isto é, ela se adapta a um invasor microbiano específico ou a uma substância estranha. A **imunidade adaptativa** será o foco deste capítulo.

SOB O MICROSCÓPIO

Célula dendrítica. As células dendríticas são células apresentadoras de antígeno que desempenham uma função importante ao auxiliar seu sistema imune a diferenciar o próprio (self) do não próprio (*non-self*).

P&R

Por que o sistema imune adaptativo geralmente não ataca os tecidos de nosso próprio corpo?

Procure pela resposta neste capítulo.

Sistema imune adaptativo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-1 Diferenciar imunidade adaptativa de imunidade inata.

Sabe-se desde algum tempo atrás que a imunidade a certas doenças infecciosas pode ser adquirida durante a vida. Se uma pessoa se recupera de varíola ou sarampo, quase sempre se torna imune à doença caso seja exposta novamente a ela. De algum modo, essas pessoas adquiriram uma memória da infecção, um fator importante na imunidade adaptativa. Finalmente, com o desenvolvimento da medicina ao longo dos séculos, foram encontrados métodos para mimetizar a imunidade adaptativa contra as doenças por exposição proposital das pessoas às formas inofensivas dos patógenos. Dessa maneira, as pessoas tornavam-se imunes; hoje, chamamos isso de *vacinação* (veja o Capítulo 18, páginas 501 a 506). A aplicação da vacina contra a varíola, a primeira doença para a qual a vacinação foi desenvolvida, ocorreu quase cem anos antes de qualquer conhecimento sobre patógenos microscópicos. Entretanto, o avanço sistemático da ciência da imunidade adaptativa postulou o conceito da teoria microbiana das doenças, isto é, que micróbios patogênicos específicos são responsáveis por doenças específicas (veja a página 404).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A vacinação é um exemplo de imunidade inata ou adaptativa? **17-1**

Natureza dupla do sistema imune adaptativo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-2 Diferenciar imunidade humoral e imunidade celular.

Para introduzir muitos dos termos e conceitos importantes para a compreensão da imunidade adaptativa, primeiramente vamos rever o desenvolvimento da base teórica. Ela servirá para enfatizar a natureza dupla da imunidade adaptativa – formada por um componente humoral e um componente celular.

Em 1887, quando Louis Pasteur inicialmente observou a imunidade que se desenvolvia em galinhas após terem sido injetadas acidentalmente com patógenos atenuados, ele formulou erroneamente a hipótese de que este efeito era devido à depleção de algum nutriente essencial que era necessário para a multiplicação do patógeno. Eventos se sucederam muito rapidamente nos anos seguintes. Emil von Behring, trabalhando com as bactérias da difteria e do tétano, mostrou que o meio de cultura no qual elas cresciam continha uma *toxina* que era fatal quando injetada em animais. Quando coelhos eram injetados com baixas quantidades da toxina, com frequência sobreviviam. Uma propriedade surpreendente foi encontrada no soro dos animais sobreviventes. Quando esse soro era injetado em outros animais após terem recebido uma dose tipicamente letal da toxina, eles não apresentavam os efeitos da doença. Aparentemente, algum fator no soro dos coelhos sobreviventes havia neutralizado as toxinas letais. A esse fator foi dado o nome de *antitoxina*. Por esse trabalho, von Behring recebeu o primeiro Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina.

Paul Erlich, um médico alemão, descobriu que uma quantidade calculada da antitoxina neutraliza uma quantidade equivalente da toxina. Ele também determinou que a natureza protetora da antitoxina é altamente específica – ela neutraliza apenas a toxina para a qual a antitoxina é produzida. A comunidade científica rapidamente voltou a atenção para esse novo conceito de imunidade, que mostrava claramente uma avanço promissor na medicina. Descobriu-se também que fatores derivados do soro e com proteção similar (agora conhecidos pelo nome mais comum de *anticorpos*) também são produzidos em resposta à exposição a bactérias e outros patógenos. Em pouco tempo, descobriu-se que os anticorpos também são produzidos contra outras substâncias particuladas, como as hemácias e o pólen das plantas, e não apenas contra patógenos microbianos, que o organismo reconhece como estranho, ou *não próprio* (*nonself*). Tais substâncias que causam a produção de anticorpos são chamadas de *antígenos*, pois são geradores de anticorpos (de "*anti*body *gen*erators"). A combinação de um anticorpo com um antígeno particulado causa visivelmente a formação de um precipitado ou lise em algumas ocasiões. Descobriu-se que a lise de uma célula carregando um antígeno em resposta a um anticorpo produzido contra ele necessita de outro elemento naturalmente encontrado no sangue. Esse elemento é o *complemento* (veja o Capítulo 16, página 463), assim chamado por complementar a ação dos anticorpos.

Imunidade humoral

Desde a antiguidade até o século XIX, a comunidade médica acreditava que a saúde dependia de quatro fluidos corporais diferentes, ou *humores*: o sangue, a fleuma, a bile preta e a bile amarela. A imunologia atual adotou o termo **imunidade humoral** para descrever a imunidade produzida por anticorpos.

Imunidade celular

Em meados da década de 1950, a imunologia era considerada uma ciência relativamente simples. A ciência médica era familiar com a imunidade inata com base em células fagocíticas não específicas e com a imunidade humoral com base em anticorpos especificamente para determinadas toxinas ou antígenos particulados. Até aquele momento, não havia função conhecida para o **timo**, um órgão linfoide encontrado no tórax e que se atrofia lentamente após a puberdade. De modo semelhante, não havia qualquer função conhecida para a **bursa de Fabricius** nas aves, uma estrutura que se assemelha a um linfonodo. Experimentos conduzidos para determinar a função do timo ou da bursa pela remoção desses órgãos não revelaram quaisquer efeitos aparentes. Um avanço na imunologia ocorreu em 1956, quando um investigador removeu a bursa de uma ave mais jovem em vez de retirá-la de uma ave adulta. Como sempre, não houve qualquer efeito evidente, e as aves foram deixadas de lado. Em um experimento desvinculado, quase um ano mais tarde, as mesmas aves foram selecionadas para produzir anticorpos contra a bactéria patogênica *Salmonella*. Isso foi feito pelo inóculo com culturas velhas da bactéria, presumivelmente atenuadas, e pela vacinação das aves. Para a surpresa do

investigador, elas não produziram anticorpos e algumas ficaram doentes e morreram. Com essa evidência, observou-se que as aves que tiveram a bursa removida quando adultas apresentavam uma resposta imune normal – produziam anticorpos após o inóculo com as bactérias. Entretanto, quando a bursa era removida de aves mais jovens, elas se tornavam aves adultas com o sistema imune defeituoso. Claramente, isso indicou que a bursa é necessária para a *maturação* do sistema imune com consequente habilidade de produzir anticorpos.

Esse importante trabalho foi publicado sem muito destaque como uma observação de duas páginas no periódico *Poultry Science*. O trabalho deve ter permanecido sem o conhecimento de pesquisadores interessados na imunologia em humanos. Entretanto, despertou a atenção de outro imunologista, que em seus ensaios também estava tentando determinar a função do timo ao removê-lo de camundongos. Seguindo as informações sugeridas no artigo na *Poultry Science,* esse investigador tentou remover o timo de camundongos recém-nascidos em vez de adultos. Esses camundongos, como as aves que tiveram a bursa removida, se desenvolveram em camundongos que não produziam anticorpos e, mais importante, apresentavam rejeição lenta a transplantes de pele de outros camundongos.

Esse foi um avanço revolucionário, demonstrando que há mais no sistema imune do que simplesmente a imunidade mediada por anticorpos, ensinada nos últimos 50 anos. Ehrlich propôs que existem certas células especializadas que produzem um anticorpo em resposta ao contato com um antígeno – que então serviu como um padrão. Esse novo trabalho parecia indicar a existência de pelo menos duas células para produzir um anticorpo. Um tipo de célula reconhecia o antígeno como sendo estranho e transmitia essa informação para um segundo tipo de célula, que de fato produzia os anticorpos. A identidade dessas duas células era desconhecida, mas pensava-se que eram provavelmente as células brancas do sangue, chamadas de linfócitos (veja a Tabela 16.1, página 455), abundantes em tecidos linfoides como o timo e a bursa de Fabricius.

Antes dessa época, a função dos linfócitos era um mistério, mas por volta da década de 1960 a tecnologia necessária para isolar e cultivar linfócitos em laboratório estava em pleno funcionamento. Determinou-se que a fonte de linfócitos estava no fígado durante as primeiras semanas do desenvolvimento. Por volta do terceiro mês, a medula óssea substitui o fígado como fonte de linfócitos. A partir da medula óssea vermelha, as células-tronco produzem os linfócitos, que iniciam sua "instrução", isto é, elas se diferenciam. Algumas amadurecem na medula óssea e se tornam **células B** (assim denominadas por causa da bursa de Fabricius), que reconhecem antígenos e produzem anticorpos específicos contra eles. O reconhecimento de diferentes antígenos depende dos receptores para os antígenos que recobrem a superfície da célula B. Outros linfócitos amadurecem sob a influência do timo e são, por essa razão, chamados de linfócitos T, ou **células T**, a base da **imunidade celular**. Tanto as células T como as células B são encontradas principalmente no sangue e nos órgãos linfoides. As células T, do mesmo modo que as células B, respondem aos antígenos através de receptores em sua superfície – **receptores de células T (TCRs**, de *T-cell receptors*). O contato com um antígeno complementar a um TCR pode induzir certos tipos de células T a se proliferarem e secretarem *citocinas* em vez de anticorpos. Essas citocinas são mensageiros químicos que transmitem instruções para outras células realizarem determinadas funções (veja a página 462).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como a pesquisa básica sobre doenças em aves foi relacionada às descobertas da imunidade celular e da imunidade humoral? **17-2**

Antígenos e anticorpos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

17-3 Definir antígeno, epítopo e hapteno.

17-4 Explicar a função dos anticorpos e descrever suas estruturas e características químicas.

17-5 Indicar uma função para cada uma das cinco classes de anticorpos.

Antígenos e anticorpos desempenham funções essenciais na resposta do sistema imune. Os antígenos induzem uma resposta imune altamente específica, que, na imunidade humoral, resulta na produção de anticorpos capazes de reconhecer o antígeno que os originou. Antígenos que causam uma resposta desse tipo são, portanto, mais conhecidos como *imunógenos*.

A natureza dos antígenos

Muitos **antígenos** são proteínas ou grandes polissacarídeos. Os lipídeos e os ácidos nucleicos geralmente são antigênicos apenas quando combinados com proteínas e polissacarídeos. Compostos antigênicos em geral são componentes de micróbios invasores como cápsulas, parede celular, flagelos, fímbrias e toxinas de bactérias; capsídeos de vírus; ou superfícies de certos micróbios. Antígenos não microbianos incluem pólen, clara de ovo, moléculas de superfície de células do sangue, proteínas séricas de outros indivíduos ou espécies, e moléculas de superfície de órgãos e tecidos transplantados.

Geralmente, os anticorpos reconhecem e interagem com regiões específicas nos antígenos chamadas de **epítopos** ou **determinantes antigênicos** (**Figura 17.1**). A natureza dessa interação depende do tamanho, da forma e da estrutura química do sítio de ligação na molécula de anticorpo.

A maioria dos antígenos tem um peso molecular de 10.000 ou mais. Uma substância estranha com baixo peso molecular raramente é antigênica a menos que esteja associada a uma molécula carreadora. Esses compostos de baixo peso molecular são chamados de **haptenos** (do grego *hapto*, agarrar; **Figura 17.2**). Assim que um anticorpo contra o hapteno é formado, o anticorpo reagirá com o hapteno independente da molécula carreadora. A penicilina é um bom exemplo de hapteno. Essa droga não é antigênica por si própria, mas algumas pessoas desenvolvem uma reação alérgica a ela. (As reações alérgicas são um tipo de resposta imune.) Nessas pessoas, quando a penicilina se combina

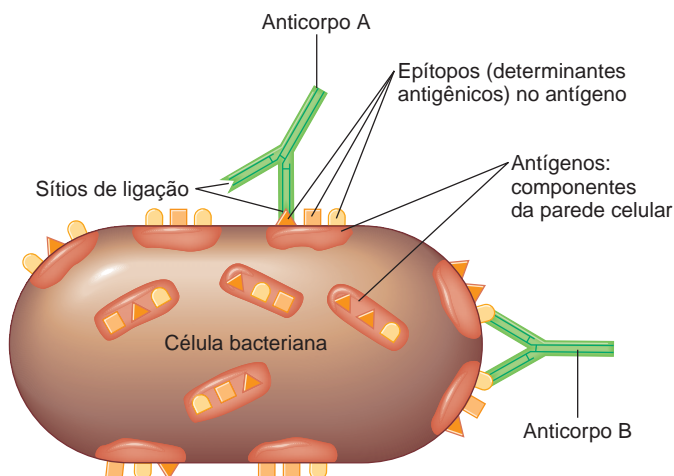



Figura 17.1 Epítopos (determinantes antigênicos). Nesta ilustração, os epítopos são componentes do antígeno – a parede celular bacteriana. Cada antígeno carrega mais de um epítopo. Cada molécula de anticorpo em forma de Y tem dois sítios de ligação que podem se fixar a um epítopo específico de um antígeno. Um anticorpo também pode se ligar a epítopos idênticos sobre duas células diferentes ao mesmo tempo (veja a Figura 18.5, página 510), o que pode induzir a agregação de células vizinhas.

P Qual tipo de anticorpo (IgG ou IgM) deve ser o mais eficiente para agregar células?

Figura 17.2 Haptenos. Um hapteno é uma molécula pequena demais para estimular a formação de anticorpos. Entretanto, quando é combinado com uma molécula carreadora maior, geralmente uma proteína do soro, o hapteno e seu carreador juntos formam um conjugado que pode estimular uma resposta imune.

P Como um hapteno se difere de um antígeno?

com as proteínas do hospedeiro, a molécula combinada resultante inicia uma resposta imune.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A reação de um anticorpo com uma bactéria é obrigatoriamente uma reação com um antígeno ou com um epítopo? **17-3**

A natureza dos anticorpos

Os **anticorpos** são proteínas globulinas (uma família de proteínas com forma globular e compacta) – portanto, utilizamos o termo **imunoglobulinas (Ig)** para os anticorpos. As globulinas são relativamente solúveis. Os anticorpos são produzidos em resposta a um antígeno e podem reconhecer e se ligar a ele. Como foi visto na Figura 17.1, uma bactéria ou um vírus pode apresentar vários epítopos que estimulam a produção de diferentes anticorpos.

Cada anticorpo tem pelo menos dois sítios idênticos que se ligam aos epítopos. Esses sítios são conhecidos como **sítios de ligação ao antígeno**. O número de sítios de ligação ao antígeno em um anticorpo é chamado de **valência** do anticorpo. Por exemplo, em sua maioria os anticorpos humanos têm dois sítios de ligação, sendo, portanto, bivalentes.

Estrutura do anticorpo

Como um anticorpo bivalente tem a estrutura molecular mais simples, ele é chamado de **monômero**. Um monômero típico de anticorpo tem quatro cadeias proteicas: duas *cadeias leves* idênticas e duas *cadeias pesadas* idênticas. (“Leve” e “pesado” referem-se aos pesos moleculares relativos.) As cadeias são unidas por ligações dissulfeto (veja a Figura 2.15c, página 46) e outras ligações para formar uma molécula em forma de Y (**Figura 17.3**). Essa molécula é flexível e pode assumir uma forma em T (repare a região da dobradiça na **Figura 17.3a**).

As duas partes localizadas nas terminações dos braços do Y são chamadas de *regiões variáveis* (*V*). Essas regiões se ligam ao epítopo (**Figure 17.3b**). As sequências de aminoácidos e, portanto, a estrutura tridimensional dessas duas regiões variáveis são idênticas em qualquer anticorpo, neste caso. Sua estrutura reflete a natureza do antígeno para o qual são específicas – elas são específicas para os dois sítios de ligação ao antígeno localizados no monômero de anticorpo. A haste do monômero e as partes inferiores dos braços do Y são chamadas de *regiões constantes* (*C*). Elas são iguais para uma classe particular de imunoglobulinas. Existem cinco tipos principais de regiões C, que são responsáveis pelas cinco principais classes de imunoglobulinas (descritas em breve).

A haste do monômero em forma de Y é denominada *região Fc*, assim chamada porque, quando a estrutura do anticorpo estava sendo descrita pela primeira vez, havia um fragmento (F) que se cristalizava (c) ao ser estocado no frio.

Essas regiões Fc geralmente são importantes nas reações imunológicas. Se forem expostas logo após ambos os sítios de ligação ao antígeno se fixarem a um antígeno como uma bactéria, por exemplo, as regiões Fc dos anticorpos adjacentes podem se ligar ao complemento. Isso ocasiona a destruição da bactéria (veja Figura 16.10, página 465). Inversamente, a região Fc pode se ligar à célula, deixando os sítios de ligação ao antígeno de anticorpos adjacentes livres para reagirem com os antígenos (veja a Figura 19.1a, página 524).

Classes de imunoglobulinas

As imunoglobulinas mais simples e mais abundantes são monômeros, mas também podem assumir diferenças em tamanho e no modo como são organizadas.

As cinco classes de imunoglobinas são designadas IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Cada classe tem um papel diferente na resposta

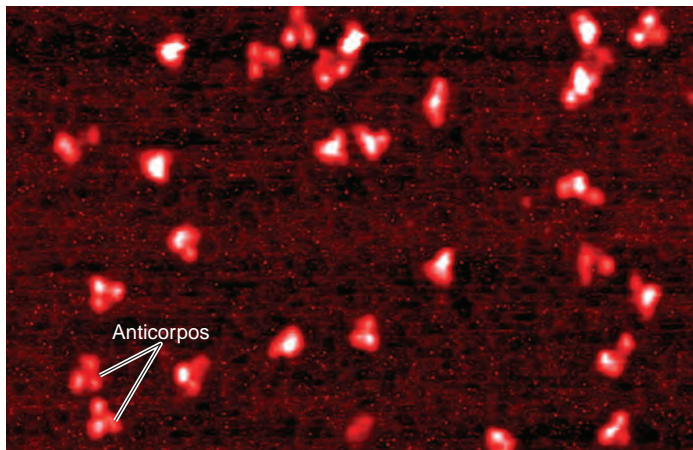
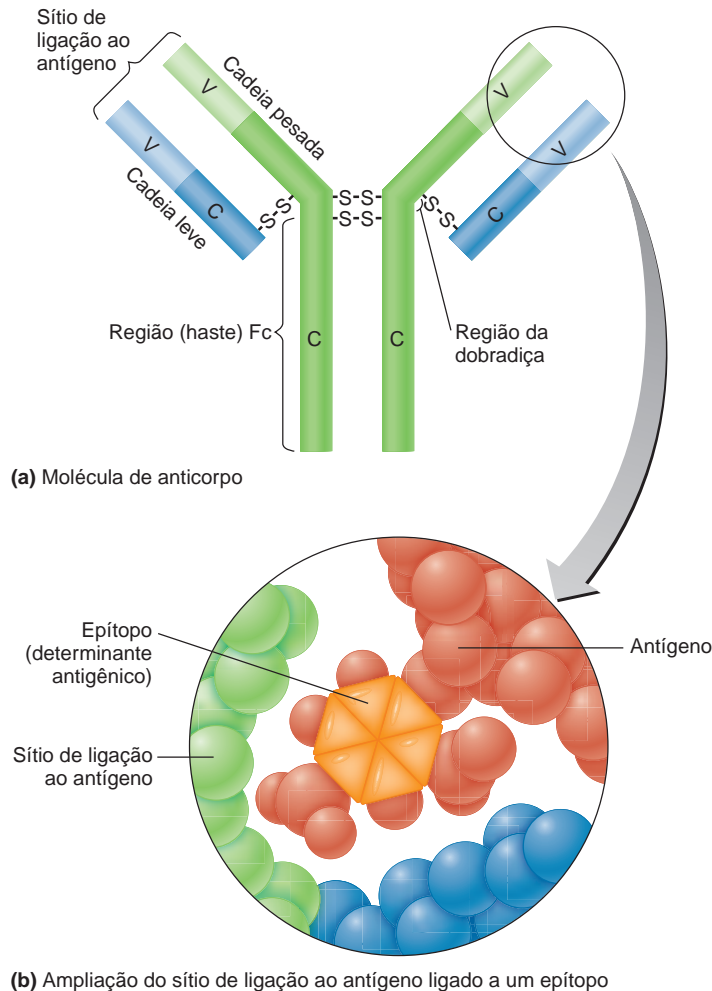
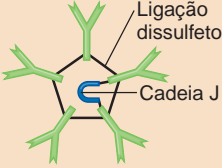
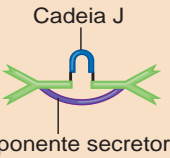
(b) Ampliação do sítio de ligação ao antígeno ligado a um epítopo

(c) Moléculas de anticorpo mostradas por microscopia de força atômica (veja a página 65).

Figura 17.3 A estrutura típica de uma molécula de anticorpo. A molécula em forma de Y é constituída por duas cadeias leves e duas cadeias pesadas unidas por ligações dissulfeto (S-S). Grande parte da molécula é constituída de regiões constantes (C), que são iguais para todos os anticorpos de mesma classe. As sequências de aminoácidos das regiões variáveis (V), que formam os dois sítios de ligação ao antígeno, diferem de molécula para molécula.

P O que é responsável pela especificidade de cada anticorpo em particular?

imune. As estruturas de IgG, IgD e IgE são parecidas com a estrutura mostrada na Figura 17.3a. As moléculas de IgA e IgM são agregados de dois ou cinco monômeros, respectivamente, que estão unidos entre si.

As estruturas e as características das classes de imunoglobulinas estão resumidas na Tabela 17.1.

IgG A **IgG** (o nome vem da fração gamaglobulina do sangue; veja a Figura 17.18, página 495) é responsável por aproximadamente 80% de todos os anticorpos no soro. Em locais de inflamação, esses monômeros de anticorpos atravessam as paredes dos vasos sanguíneos e penetram no fluido tecidual. Anticorpos IgG maternos, por exemplo, podem cruzar a placenta e conferir imunidade passiva ao feto (veja a página 494). Os anticorpos IgG protegem contra as bactérias circulantes e os vírus, neutralizam toxinas bacterianas, ativam o sistema complemento e, quando ligados a antígenos, intensificam a eficácia das células fagocíticas.

IgM Os anticorpos da classe **IgM** (de *macro*, que reflete o seu tamanho grande) produzem até 5 a 10% dos anticorpos no soro. A IgM tem uma estrutura de pentâmero formada por cinco monômeros unidos entre si por um polipeptídeo chamado de *cadeia J* (*joining*) (veja a Tabela 17.1). O grande tamanho da molécula impede que a IgM se desloque livremente como faz a IgG, de modo que anticorpos IgM geralmente permanecem nos vasos sanguíneos sem penetrar os tecidos ao seu redor.

A IgM é o tipo predominante de anticorpo envolvido na resposta aos antígenos do grupo sanguíneo ABO localizados na superfície das hemácias (veja a Tabela 19.2, página 527). A IgM é muito mais eficaz que a IgG em causar o agrupamento de células e vírus (veja a discussão sobre aglutinação na página 484) e em reações envolvendo a ativação do sistema complemento (veja a Figura 16.9, página 464).

O fato de a IgM aparecer primeiro nas respostas a uma infecção primária e ser de vida relativamente curta faz dela uma imunoglobulina de valor singular no diagnóstico das doenças. Se altas concentrações de IgM contra um patógeno são detectadas em um paciente, provavelmente a doença observada é causada por aquele patógeno. A detecção de IgG, que é de vida relativamente longa, deve indicar apenas que a imunidade contra um patógeno em particular foi adquirida há mais tempo.

IgA A **IgA** é responsável por apenas 10 a 15% dos anticorpos no soro, mas é certamente a forma mais comum nas membranas mucosas e em secreções do corpo como o muco, a saliva, as lágrimas e o leite materno. Se levarmos isso em consideração, a IgA é a imunoglobulina mais abundante do corpo (a IgG é a mais abundante no soro). A IgA que circula no soro, a IgA sérica, geralmente é encontrada na forma de um monômero. A forma mais eficaz de IgA, entretanto, consiste em dois monômeros conectados que formam um *dímero* chamado de *IgA secretora*. Ela é produzida nessa forma pelos plasmócitos localizados nas membranas mucosas. Cada dímero então penetra e atravessa a mucosa, onde adquire um polipeptídeo chamado de *componente secretor*, que protege a IgA da degradação enzimática. A principal função da IgA secretora é provavelmente impedir a fixação de patógenos microbianos às superfícies da mucosa. Isso é importante sobretudo para os patógenos intestinais e respiratórios. Devido ao fato de a imunidade por IgA ser de vida relativamente

Tabela 17.1 Resumo das classes de imunoglobulinas

Características	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
		Ligação dissulfeto; Cadeia J	Cadeia J; Componente secretor		
Estrutura	Monômero	Pentâmero	Dímero (com o componente secretor)	Monômero	Monômero
Porcentagem do anticorpo sérico total	80%	5 a 10%	10 a 15%*	0,2%	0,002%
Localização	Sangue, linfa, intestino	Sangue, linfa, superfície das células B (como monômero)	Secreções (lágrimas, saliva, muco, intestino, leite), sangue, linfa	Superfície das células B, sangue, linfa	Ligada a mastócitos e basófilos em todo o organismo, sangue
Peso molecular	150.000	970.000	405.000	175.000	190.000
Meia-vida no soro	23 dias	5 dias	6 dias	3 dias	2 dias
Fixação do complemento	Sim	Sim	Não†	Não	Não
Transferência placentária	Sim	Não	Não	Não	Não
Funções conhecidas	Intensifica a fagocitose; neutraliza toxinas e vírus; protege o feto e o recém-nascido	Especialmente efetiva contra micro-organismos e antígenos aglutinantes; primeiros anticorpos produzidos em resposta à infecção inicial	Proteção localizada nas superfícies das mucosas	Função sérica desconhecida; a presença nas células B funciona na iniciação da resposta imune	Reações alérgicas; possivelmente lise de vermes parasitários

*Porcentagem somente no soro; se as membranas mucosas e as secreções do organismo fossem incluídas, a porcentagem seria muito mais alta.
†Pode ser sim pela via alternativa.

curta, a duração da imunidade para as várias infecções respiratórias também é curta. A presença de IgA no leite materno, em especial no colostro (veja a página 494), provavelmente ajuda a proteger os bebês das infecções gastrintestinais.

IgD Os anticorpos **IgD** constituem apenas 0,2% dos anticorpos no soro total. Suas estruturas se assemelham às das moléculas de IgG. Os anticorpos IgD são encontrados no sangue, na linfa e particularmente na superfície das células B (**Figura 17.4**). A IgD não tem função definida.

IgE Os anticorpos da classe **IgE** são um pouco maiores que as moléculas de IgG; eles constituem apenas 0,002% dos anticorpos no soro total. As moléculas de IgE se ligam avidamente por suas porções Fc (haste) aos receptores localizados nos mastócitos e basófilos, células especializadas que participam nas reações alérgicas (veja o Capítulo 19). Quando um antígeno como o pólen liga-se cruzadamente com os anticorpos IgE associados a um mastócito ou basófilo (veja a Figura 19.1a, página 524), essas células liberam histamina e outros mediadores químicos. Essas substâncias químicas induzem uma resposta – por exemplo, uma reação alérgica como a rinite alérgica. Entretanto, a resposta pode ser ao mesmo tempo protetora, pois atrai o complemento e as células fagocíticas. Isso é útil sobretudo quando os anticorpos se ligam a micróbios parasitas. A concentração de IgE é muito aumentada em algumas reações alérgicas e infecções parasitárias, o que em geral é útil do ponto de vista diagnóstico.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Os conceitos teóricos originais de um anticorpo indicavam que sua estrutura era como um bastão com determinantes antigênicos em cada terminação. Qual é a vantagem da estrutura em forma de Y aceita atualmente? **17-4**
- ✓ Que classe de anticorpo pode protegê-lo de um resfriado comum? **17-5**

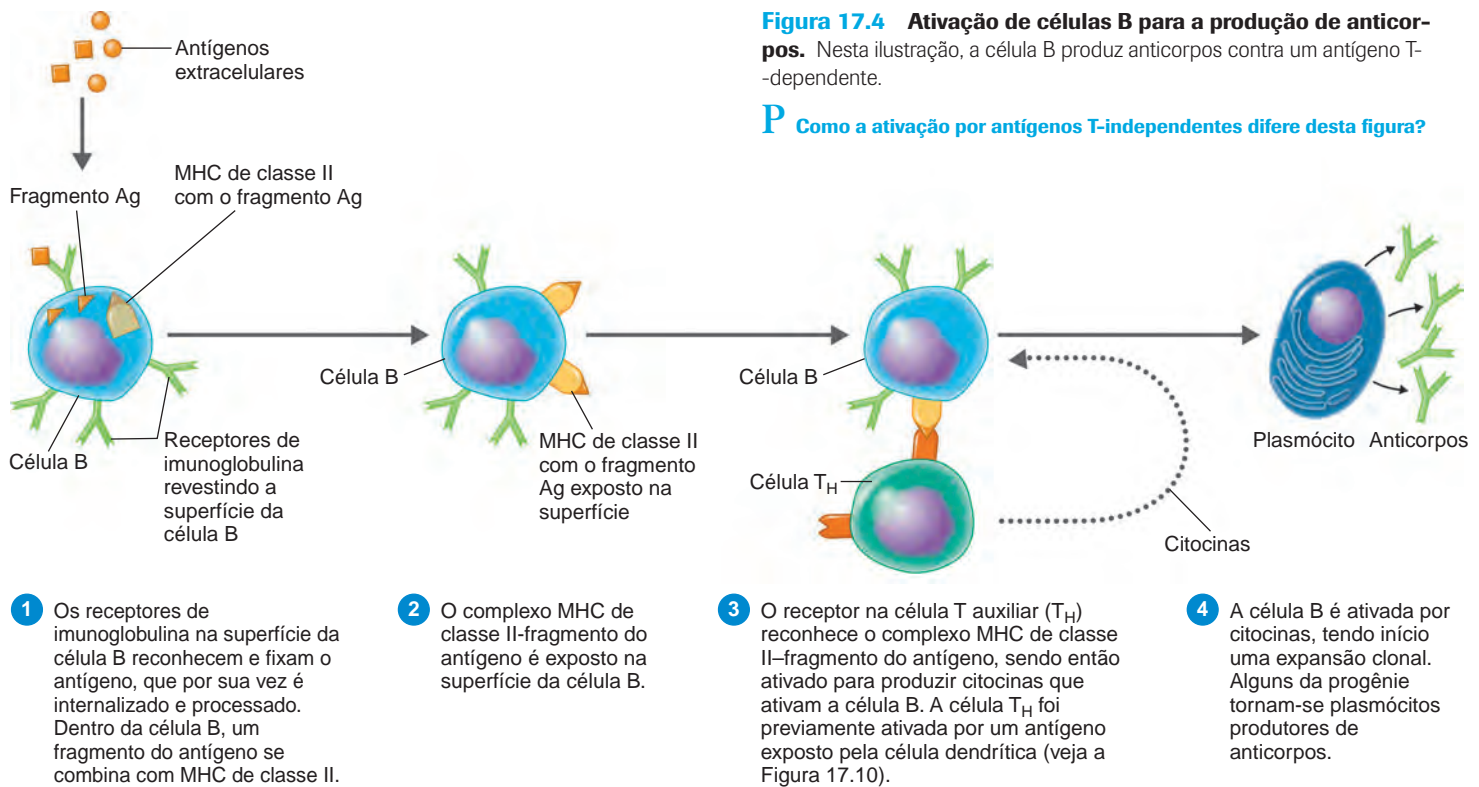
Células B e imunidade humoral

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

17-6 Comparar e contrastar antígenos T-dependentes e T-independentes.

17-7 Diferenciar plasmócito de célula de memória.

Figura 17.4 Ativação de células B para a produção de anticorpos. Nesta ilustração, a célula B produz anticorpos contra um antígeno T-dependente.

P Como a ativação por antígenos T-independentes difere desta figura?

17-8 Descrever seleção clonal.

17-9 Descrever como os seres humanos podem produzir diferentes anticorpos.

Como vimos, a resposta humoral (mediada por anticorpos) é realizada por anticorpos, que são produzidos por um grupo particular de linfócitos chamados de células B. O processo que leva à produção de anticorpos inicia quando as células B são expostas aos *antígenos livres* ou *extracelulares*.

Seleção clonal de células produtoras de anticorpos

Cada célula B leva consigo imunoglobulinas em sua superfície que são parte de sua constituição. A maioria das imunoglobulinas da superfície de células B é IgM e IgD – todas específicas para o reconhecimento do mesmo epítopo. Dez por cento ou menos das células B carregam outras classes de imunoglobulinas, mas em certos locais suas quantidades podem ser altas; por exemplo, as células B na mucosa intestinal são ricas em IgA. Células B podem carregar pelo menos 100.000 moléculas idênticas de imunoglobulina encravadas na superfície de suas membranas.

Quando uma imunoglobulina da célula B se liga ao epítopo para o qual se tornou específica, a célula B é *ativada*. Uma célula B ativada sofre *expansão clonal*, ou proliferação. Geralmente, as células B requerem a assistência de uma *célula T auxiliar* (T_H, *T helper cell*), como mostrado na Figura 17.4. (As células T serão o assunto de uma discussão detalhada mais adiante neste capítulo.) Um antígeno que requer uma célula T_H para a produção de anticorpos é conhecido como **antígeno T-dependente**. Antígenos T-dependentes são principalmente proteínas, como as encontradas em vírus, bactérias, hemácias exógenas e haptenos com suas moléculas carreadoras. Para que anticorpos sejam produzidos em resposta a um antígeno T-dependente, é necessário que as células B e T sejam ativadas e interajam. O processo é iniciado quando a célula B entra em contato com um antígeno. É importante notar que o antígeno entra em contato com as imunoglobulinas na superfície da célula B, sendo processado enzimaticamente dentro da célula B, e que os seus fragmentos são combinados com o **complexo principal de histocompatibilidade** (**MHC**, de *major histocompatibility complex*). O MHC é um conjunto de genes que codificam moléculas de glicoproteínas geneticamente diversas (ou seja, parte carboidrato e parte proteína) encontradas na membrana plasmática das células nucleadas dos mamíferos. Os estudos sobre o MHC tiveram início quando se descobriu que a rejeição de tecido refletia a presença de moléculas de superfície chamadas de antígenos de histocompatibilidade. Porém, nos seres humanos o MHC também é chamado de sistema de antígeno leucocitário humano (HLA, de *human leukocyte antigen*), discutido mais adiante no Capítulo 19, página 533. A combinação de fragmentos antigênicos e o MHC são então expostos na superfície das células B para que sejam identificados pelos receptores nas células T auxiliares. A molécula de MHC identifica o hospedeiro, e sua utilização nesse caso impede que o sistema imune produza anticorpos que seriam prejudiciais para o hospedeiro. Nesse exemplo, o MHC é de classe II, sendo encontrado apenas na superfície das *células apresentadoras de antígeno* (*APCs*, de *antigen-presenting cells*) – nesse caso, uma célula B. Veremos outras APCs mais adiante neste capítulo.

Como mostrado na Figura 17.4, a célula T_H em contato com o fragmento antigênico apresentado na superfície da célula B torna-se

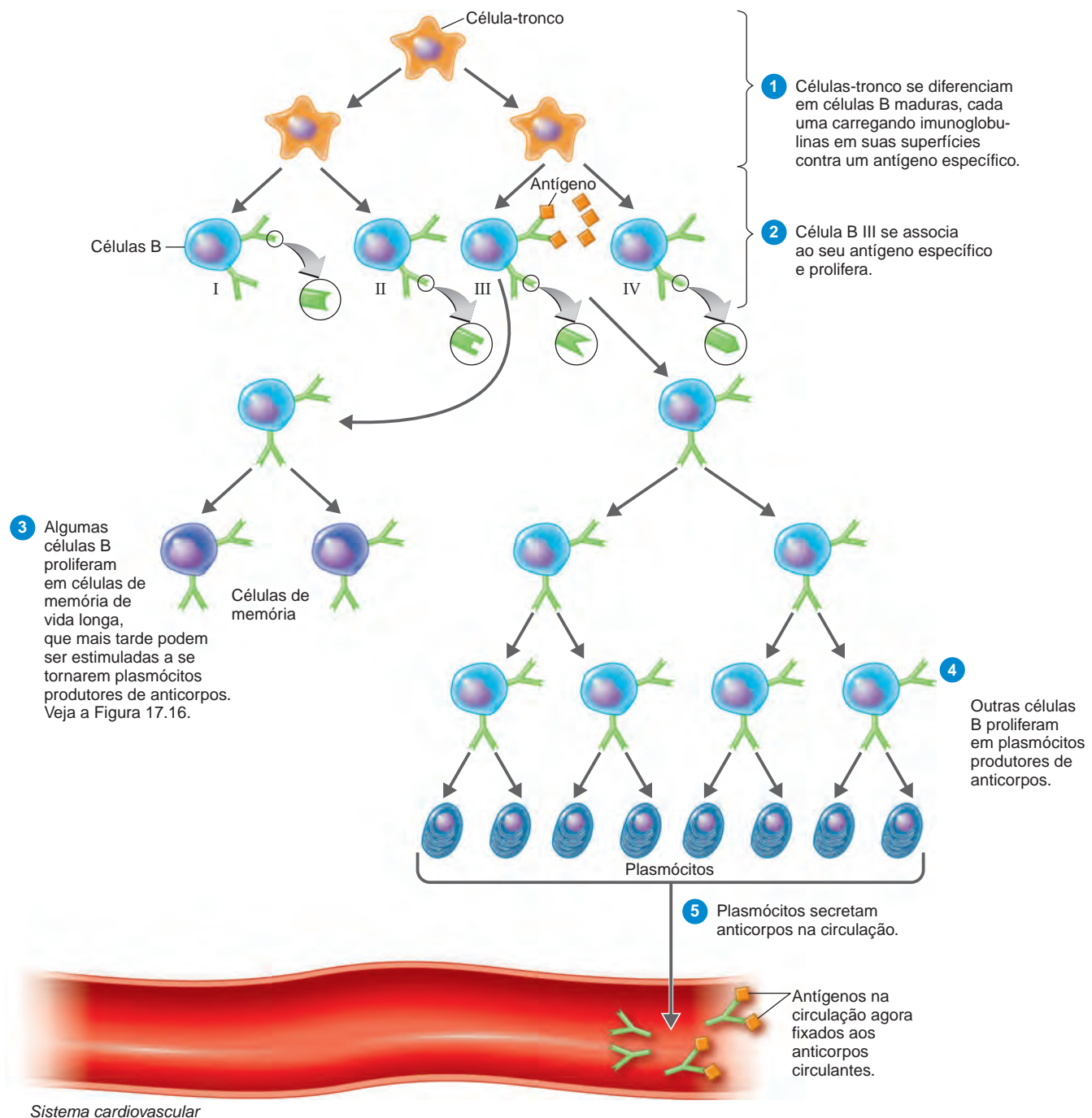



Figura 17.5 **Seleção clonal e diferenciação de células B.** As células B podem reconhecer um número quase infinito de antígenos, mas cada célula em particular reconhece apenas um tipo de antígeno. Um contato com um antígeno em especial dispara a proliferação de uma célula que é específica para aquele antígeno (aqui, célula B "III") em um clone de células com a mesma especificidade, daí o termo *seleção clonal*.

P O que levou a célula "III" a responder?

ativada e começa a produzir citocinas, que liberam uma mensagem para a ativação da célula B. Uma célula B ativada prolifera em um grande clone de células, algumas das quais se diferenciarão em **plasmócitos** produtores de anticorpos. Outros clones da célula B ativada tornam-se **células de memória** de vida longa, responsáveis por uma intensa resposta secundária a um antígeno (veja a Figura 17.16, página 494). Esse fenômeno, como mostrado na **Figura 17.5**, é chamado de **seleção clonal**. (Um processo semelhante ocorre com células T,

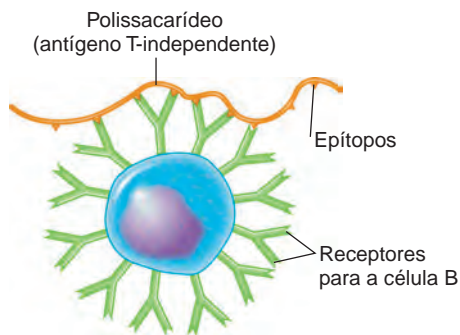



Figura 17.6 Antígenos T-independentes. Antígenos T-independentes apresentam unidades repetitivas (epítopos) que podem ligar cruzadamente vários receptores de antígenos em algumas células B. Esses antígenos estimulam a célula B a produzir anticorpos sem a ajuda de células T auxiliares. Os polissacarídeos das cápsulas bacterianas são exemplos desse tipo de antígeno.

P Como você pode diferenciar antígenos T-dependentes de antígenos T--independentes?

como veremos mais adiante neste capítulo.) O conjunto de células B não apresenta muitos que sejam prejudicialmente reativos contra o tecido do hospedeiro, ou a ele mesmo, sendo geralmente eliminados no estágio de linfócito imaturo por um processo chamado de **deleção clonal**.

Antígenos que estimulam as células B diretamente sem a ajuda de células T são chamados de **antígenos T-independentes**. Eles são caracterizados por subunidades repetitivas, como aquelas encontradas nos polissacarídeos ou lipopolissacarídeos. Cápsulas bacterianas geralmente são bons exemplos de antígenos T--independentes. As subunidades repetitivas, como mostrado na **Figura 17.6**, podem se ligar a múltiplos receptores de células B, o que provavelmente explicaria por que não requerem a assistência da célula T. Antígenos T-independentes em geral provocam uma resposta imune mais fraca que os antígenos T-dependentes. Essa resposta é constituída principalmente de IgM, sem geração de células de memória. O sistema imune das crianças não pode ser estimulado por antígenos T-independentes até aproximadamente os dois anos de idade.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Haveria necessidade de uma célula T_H estimular uma célula B a produzir anticorpos na pneumonia pneumocócica (veja a Figura 24.12, página 686)? **17-6**
- ✓ Plasmócitos produzem anticorpos; eles também produzem células de memória? **17-7**
- ✓ De que modo uma célula B que encontra um antígeno funciona como uma célula apresentadora de antígeno? **17-8**

Diversidade de anticorpos

O sistema imune humano é capaz de reconhecer um número inimaginável de antígenos diferentes – estima-se um mínimo de 10^{15} antígenos. O número de genes necessários para essa diversidade parecia requerer uma parte significativa do DNA de uma pessoa. O trabalho do imunologista japonês Susumu Tonegawa, pelo qual ele recebeu o prêmio Nobel em 1987, mostrou como essa diversidade poderia ser obtida por um conjunto de apenas centenas de genes, e não bilhões. De modo muito simples, o mecanismo é análogo à geração de um número gigantesco de palavras a partir de um alfabeto limitado. Esse "alfabeto" é encontrado na constituição genética da sequência de aminoácidos da região variável (V) da molécula de imunoglobulina, que pode estar ligada a várias sequências na região constante (C) do anticorpo (veja a Figura 17.3). Essas combinações reduzem muito a quantidade de informação genética necessária, para que um gene diferente não seja requerido para responder a cada antígeno.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Em que parte da molécula do anticorpo encontramos a sequência de aminoácidos responsável pela grande diversidade genética possível na produção de anticorpos? **17-9**

Ligação antígeno-anticorpo e suas consequências

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-10 Descrever quatro consequências da reação antígeno-anticorpo.

Quando um anticorpo encontra um antígeno para o qual ele é específico, rapidamente forma-se um **complexo antígeno-anticorpo**. Um anticorpo se liga a um antígeno como uma bactéria em uma porção específica chamada de *epítopo*, ou *determinante antigênico* (veja a Figura 17.1).

A força de ligação entre um antígeno e um anticorpo é chamada de **afinidade**. Em geral, quanto mais próximo o encaixe físico entre o antígeno e o anticorpo, maior a afinidade. Os anticorpos tendem a reconhecer a forma do epítopo do antígeno. Eles também exibem uma capacidade para **especificidade** que é extraordinária. Eles podem distinguir pequenas diferenças na sequência de aminoácidos de uma proteína e até mesmo em dois isômeros (veja a Figura 2.13, página 43). Dessa maneira, os anticorpos podem ser usados para diferenciar os vírus da catapora e do sarampo, e as bactérias de diferentes espécies, por exemplo.

A ligação de um anticorpo a um antígeno protege o hospedeiro ao marcar as células e as moléculas estranhas para a destruição pelos fagócitos e pelo complemento. A molécula de anticorpo por si própria não é prejudicial ao antígeno. Organismos exógenos e toxinas tornam-se inofensivos apenas por alguns poucos mecanismos, como resumido na **Figura 17.7**. Esses mecanismos são aglutinação, opsonização, neutralização, citotoxicidade celular dependente de anticorpo e ativação do complemento levando à inflamação e à lise celular (veja a Figura 16.10, página 465).

Na **aglutinação**, os anticorpos induzem a agregação dos antígenos. Por exemplo, os dois sítios de ligação ao antígeno de um anticorpo IgG podem combinar com epítopos em duas células exógenas distintas, resultando em agregação das células em grupos que são mais facilmente ingeridos pelos fagócitos. Devido aos numerosos sítios de ligação, a IgM é mais eficaz nas ligações cruzadas e na agregação de antígenos particulados (veja a Figura 18.5, página

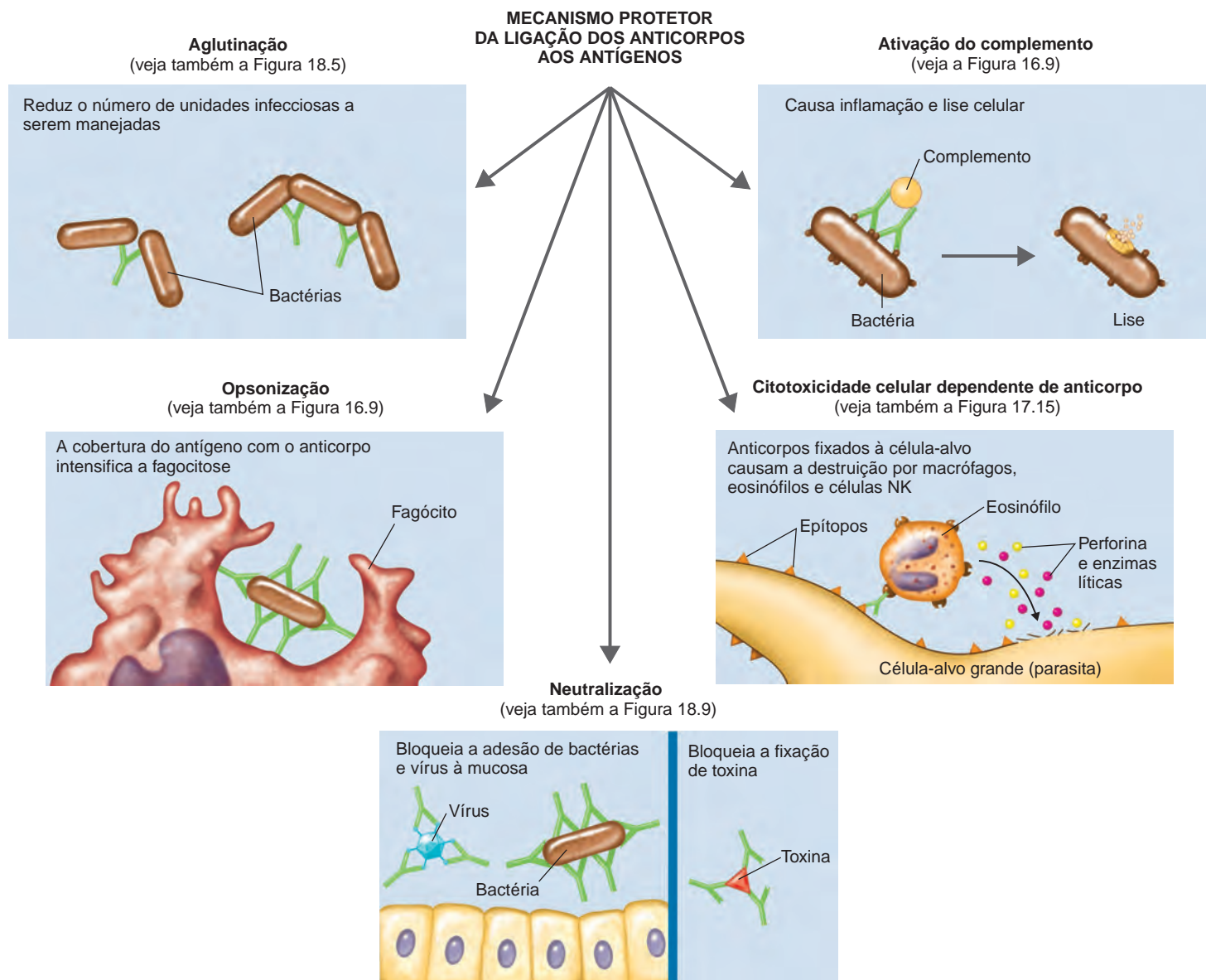



Figura 17.7 As consequências da ligação antígeno-anticorpo. A ligação dos anticorpos aos antígenos para formar complexos antígeno-anticorpo marca células e moléculas estranhas para a destruição pelos fagócitos e pelo complemento.

P Quais são as possíveis consequências de uma reação antígeno-anticorpo?

510). A IgG requer de 100 a 1.000 vezes mais moléculas para obter os mesmos resultados. (No Capítulo 18 veremos como a aglutinação é importante para o diagnóstico de algumas doenças.)

Para a **opsonização** (do grego *opsonare*, que significa preparar comida), o antígeno, como uma bactéria, é recoberto com anticorpos que intensificam a ingestão e a lise pelas células fagocíticas. A **citotoxicidade celular dependente de anticorpo** (veja a página 491 e a Figura 17.15) se assemelha à opsonização na qual o organismo-alvo torna-se recoberto com anticorpos; porém, a destruição da célula-alvo é realizada por células do sistema imune que permanecem exteriores à célula-alvo.

Na **neutralização**, os anticorpos IgG inativam os micróbios bloqueando sua fixação às células hospedeiras e neutralizando as toxinas da mesma maneira.

Finalmente, tanto os anticorpos IgG quanto IgM podem disparar a **ativação do sistema complemento**. Por exemplo, a inflamação é causada por uma infecção ou um dano ao tecido (veja a Figura 16.8, página 461). Um aspecto da inflamação é que ela geralmente irá causar o revestimento dos micróbios com certas proteínas na área inflamada. Por sua vez, isso leva à fixação do micróbio ao complexo complemento-anticorpo. Esse complexo desintegra o micróbio, que então atrai os fagócitos e outras células defensivas do sistema imune àquela área.

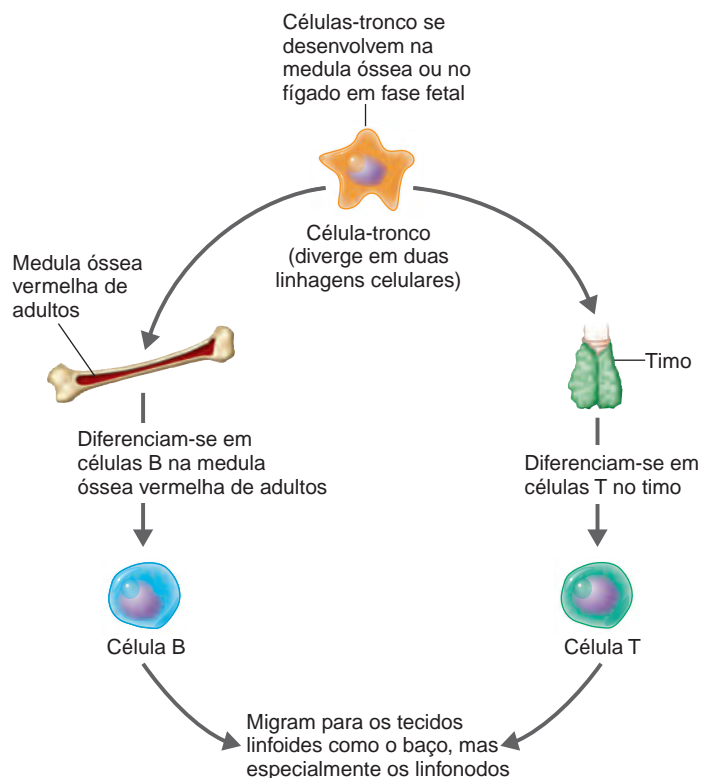



Figura 17.8 Diferenciação de células T e células B. As células B e T se originam das células-tronco na medula óssea vermelha ou no fígado fetal. (Hemácias, macrófagos, neutrófilos e outras células brancas do sangue também se originam dessas mesmas células-tronco.) Algumas células atravessam o timo e emergem como células T maduras. Outras células provavelmente permanecem na medula óssea vermelha e tornam-se células B. Ambos os tipos de células então migram para os tecidos linfoides, como os linfonodos e o baço.

P Qual célula, T ou B, produz anticorpos?

Como será visto no Capítulo 19, a ação dos anticorpos pode ser nociva.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Quais anticorpos e que outros componentes do sistema imune são necessários para a lise de uma célula-alvo antigênica? **17-10**

Células T e imunidade celular

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

17-11 Descrever pelo menos uma função de cada uma das seguintes células: células M, células T_H1, células T_H2, células T_C, células T_{reg}, CTLs, células NK.

17-12 Diferenciar células T auxiliares, T citotóxicas e T reguladoras.

17-13 Diferenciar células T_H1 e T_H2.

17-14 Definir *apoptose.*

Anticorpos humorais são eficazes contra patógenos como vírus e bactérias que estejam circulando livremente, onde os anticorpos podem entrar em contato com eles. Antígenos intracelulares, como um vírus dentro de uma célula infectada, não são expostos aos anticorpos circulantes. Algumas bactérias e parasitas também podem invadir e viver dentro das células. As células T provavelmente evoluíram em resposta a esse aspecto da patogenicidade – a necessidade de combater patógenos intracelulares. Elas também são o modo pelo qual o sistema imune reconhece células que não são próprias, especialmente células cancerosas.

Assim como as células B, cada célula T é específica apenas para um determinado antígeno. Mais do que o revestimento com imunoglobulinas que proporcionam a especificidade para as células B, as células T apresentam TCRs. Como as células B e todas as outras células envolvidas na resposta imune, as células T se desenvolvem a partir de células-tronco na medula óssea vermelha (**Figura 17.8**). Os precursores de células T migram da medula óssea e atingem a sua maturidade no timo. A maior parte das células T imaturas, estimada em 98%, é eliminada no timo, o que é análogo à deleção clonal das células B. Isso reflete um processo de eliminação, chamado de **seleção tímica**, de células T que não reconhecem especificamente moléculas próprias do MHC. Isso é importante para impedir que o organismo ataque seus próprios tecidos. Em seguida, células T maduras migram do timo através do sistema vascular sanguíneo e linfático para os vários tecidos linfoides (veja a Figura 16.5, página 456) onde é muito provável que encontrem os antígenos.

A maioria dos patógenos que o sistema imune celular está preparado para combater entra primeiramente no trato gastrintestinal ou nos pulmões, onde encontram uma barreira de células epiteliais. Normalmente, podem atravessar essa barreira no trato gastrintestinal somente por um arranjo espalhado de células de passagem chamadas de **células de micropregas**, ou **células M** (**Figura 17.9**; veja também a Figura 25.7, página 712). (Em vez de uma miríade de microvilosidades em forma de dedos encontradas na superfície das células absortivas epiteliais do trato intestinal, as células M apresentam micropregas.) As células M estão localizadas sobre as **placas de Peyer**, que são órgãos linfoides secundários localizados na parede intestinal. As células M são bem adaptadas para absorver os antígenos do trato intestinal e permitir sua transferência para os linfócitos e as células apresentadoras de antígeno do sistema imune encontrados ao longo do trato intestinal, logo abaixo da camada de células epiteliais, mais particularmente nas placas de Peyer. Também é aqui que os anticorpos, principalmente a IgA, essencial para a imunidade da mucosa, são formados e migram para o revestimento interno da mucosa.

O reconhecimento de antígenos por uma célula T requer que eles sejam primeiramente processados pelas **células apresentadoras de antígenos** (**APCs**, de *antigen-presenting cells*) especializadas. Isso se assemelha à situação discutida anteriormente na imunidade humoral, em que as células B funcionam como APCs (veja a Figura 17.4). Após o processamento, um fragmento antigênico é apresentado na superfície da APC junto com a molécula de MHC. As APCs são descritas na página 489; entre elas estão os macrófagos ativados e, mais importante, as células dendríticas.

A habilidade do corpo de produzir novas células T diminui com a idade, tendo início ao final da adolescência. Eventualmente, o timo produtor de células T torna-se menos ativo, e a medula óssea produz menos células B. Como resultado, o sistema imune está relativamente fraco em adultos mais velhos. Porém, um número

suficiente de células T e B de memória de vida longa sobrevive para propiciar a imunização mais eficaz de adultos mais velhos contra doenças como a influenza e a pneumonia pneumocócica.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Que anticorpo é produzido primeiro quando um antígeno é capturado por uma célula M? **17-11**

Classes de células T

Existem classes de células T com diferentes funções, bem como as classes de imunoglobulinas. Por exemplo, as células T auxiliares cooperam com as células B na produção de anticorpos, principalmente pela sinalização de citocinas (veja a Figura 17.4). Portanto, as células T auxiliares são uma importante parte da imunidade humoral, sendo até mesmo os elementos essenciais da imunidade celular. Em suas contribuições para a imunidade celular, as células T não contribuem com a produção de anticorpos, porém interagem mais diretamente com os antígenos. Dessa forma, as duas populações de células T que nos interessam aqui são as **células T auxiliares (T_H)** e as **células T citotóxicas (T_C)**. Uma célula T_C pode se diferenciar em uma célula efetora chamada de **linfócito T citotóxico** (**CTL**, de *cytotoxic T lymphocyte*).

As células T são classificadas de acordo com determinadas glicoproteínas localizadas em sua superfície chamadas de **grupos de diferenciação** (**CD**, de *cluster of differentiation*). Esses grupos são moléculas de membrana que são importantes sobretudo para a adesão aos receptores. Os CDs de maior interesse são o CD4 e o CD8; as células que carregam essas moléculas são designadas **$CD4^+$** e **$CD8^+$**, respectivamente. (Pela importância dessas moléculas na infecção pelo HIV, veja a Figura 19.13, página 540). As células T_H são classificadas como $CD4^+$, que se ligam às moléculas de MHC de classe II das células B e das APCs (Figuras 17.4 e 17.10). As células T_C são classificadas como $CD8^+$, que se ligam às moléculas de MHC de classe I (Figura 17.11 e página 488).

Células T auxiliares (células T $CD4^+$)

Vimos que uma parte essencial das defesas inatas do corpo é a fagocitose realizada por células como os macrófagos. Os macrófagos, quando funcionam como APCs, também são importantes na imunidade celular adaptativa. As células T_H podem reconhecer um antígeno apresentado na superfície de um macrófago e ativá-lo, deixando-o mais efetivo tanto na fagocitose quanto na apresentação de antígeno. Ainda mais importante que as APCs são as células dendríticas (veja a página 490). As células dendríticas são importantes principalmente na ativação de células $CD4^+$ e no desenvolvimento de suas funções efetoras (**Figura 17.10**).

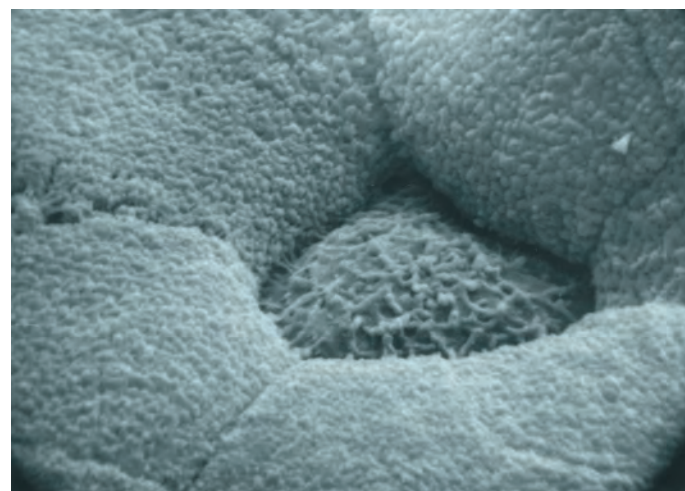
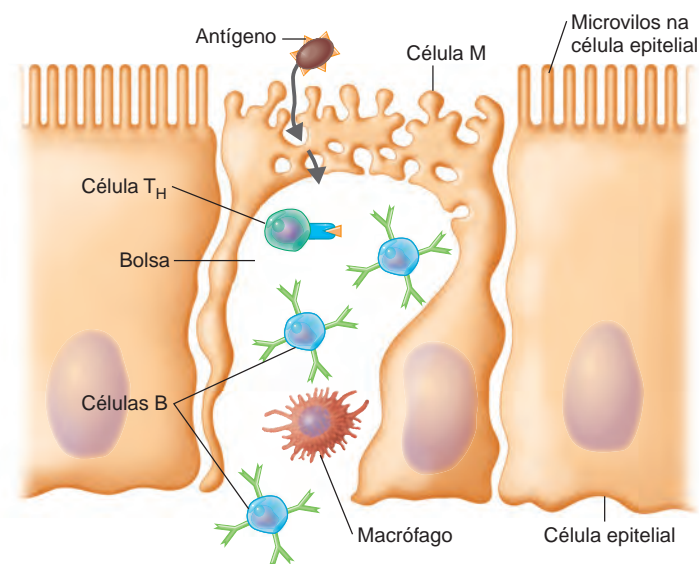
Para que uma célula $CD4^+$ seja ativada, seu TCR reconhece um antígeno que tenha sido processado e apresentado como fragmentos retidos em um complexo com proteínas do MHC de classe II na superfície da APC. Esse é o sinal inicial para a ativação; um segundo sinal, o sinal coestimulador, que está presente na APC e na célula T_H, também é necessário. Uma vez que a ativação deva ser direcionada contra os patógenos nocivos, os fragmentos antigênicos expostos devem conter os *receptores do tipo Toll* (veja o Capítulo 16, página 450), que sinalizam a presença de um icróbio perigoso. A célula T_H ativada começa a proliferar a uma taxa de

(a) Célula M na placa de Peyer. Observe as pontas dos microvilos nas células epiteliais adjacentes.

(b) As células M facilitam o contato entre os antígenos que atravessam o trato intestinal e as células do sistema imune do organismo.

Figura 17.9 Células M. As células M estão localizadas dentro das placas de Peyer (veja a Figura 16.5, página 456), que por sua vez estão localizadas na parede intestinal. Sua função é transportar os antígenos encontrados no trato digestivo para que entrem em contato com os linfócitos e as células apresentadoras de antígeno (veja a página 488) do sistema imune.

P Por que as células M são especialmente importantes para as defesas imunes contra as doenças que afetam o sistema digestivo?

dois a três ciclos por dia e a secretar citocinas, que são essenciais para suas funções efetoras. A célula proliferativa T_H se diferencia em populações T_H1 e T_H2; ela também forma uma população de células de memória.

As citocinas produzidas pelas **células T_H1**, principalmente o IFN-γ, ativam a maior parte das células relacionadas aos elementos importantes da imunidade celular, como a hipersensibilidade tardia (veja a página 529), e são também responsáveis pela ativa-

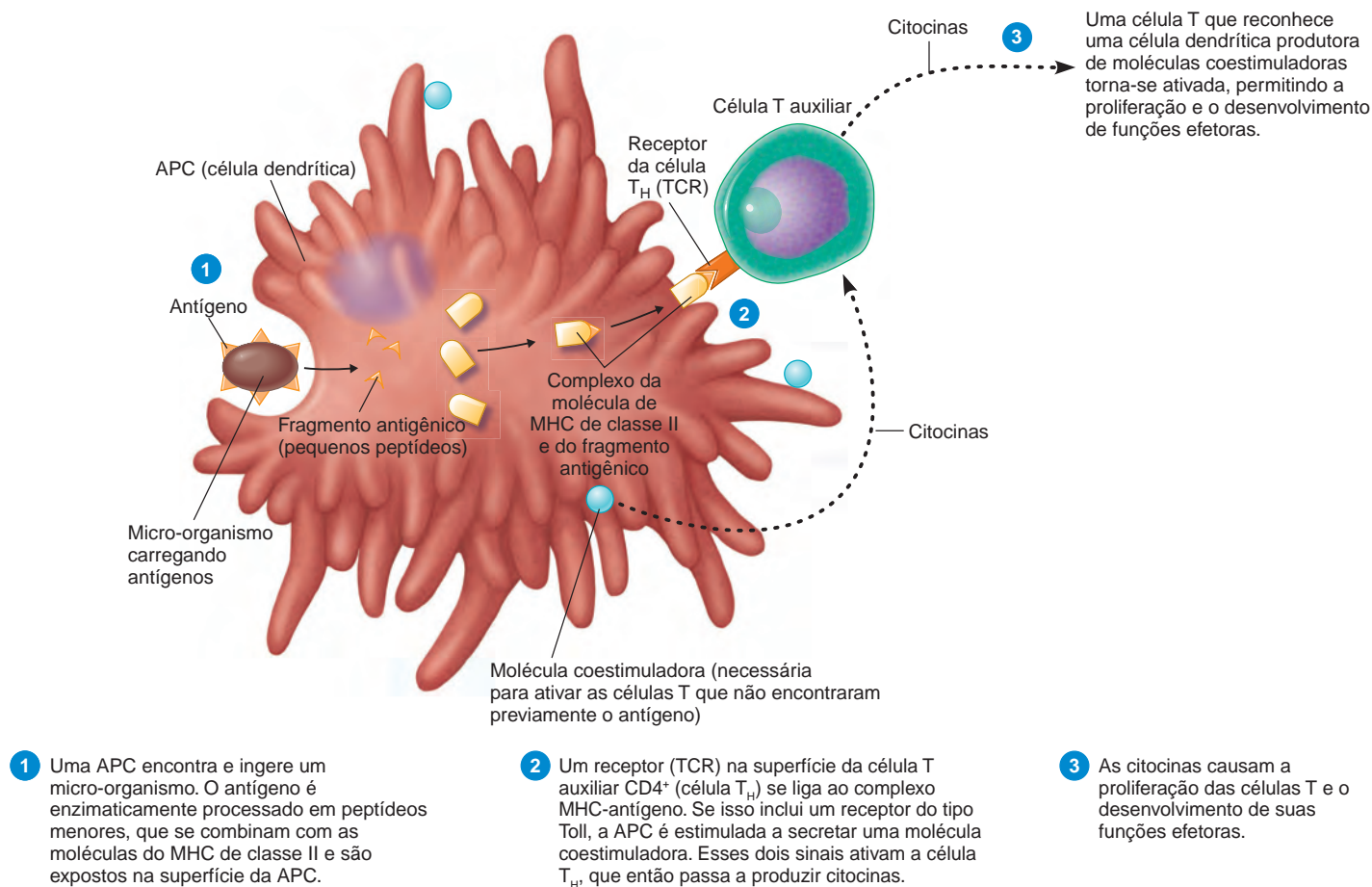



Figura 17.10 **Ativação de células T auxiliares $CD4^+$.** Para ativar uma célula T auxiliar $CD4^+$, pelo menos dois sinais são necessários: o primeiro é a ligação do TCR ao antígeno processado, e o segundo requer uma citocina coestimuladora como IL-2 e outras. Uma vez ativada, a célula T_H secreta citocinas que afetam as funções efetoras de múltiplas células do sistema imune.

P **Qual é a função do macrófago?**

ção dos macrófagos (veja a página 490). Elas também estimulam a produção de anticorpos que promovem a fagocitose e são eficazes em intensificar a atividade do complemento, como a opsonização e a inflamação (veja a Figura 16.9, página 464). Como mostrado na **Figura 17.11**, a geração de linfócitos T citotóxicos também requer a ação de uma célula T_H1.

As **células T_H2** produzem citocinas que estão associadas principalmente com a produção de anticorpos, em especial IgE, que são importantes nas reações alérgicas (veja a discussão sobre hipersensibilidade na página 523). Elas também são importantes na ativação de eosinófilos na defesa contra as infecções por parasitas extracelulares como os helmintos (veja a Figura 17.15, página 492).

Células T citotóxicas (células T $CD8^+$)

As células T citotóxicas, apesar de seu nome, não são capazes de atacar qualquer célula-alvo à medida que deixam o timo; na verdade, elas são precursoras dos CTLs, que apresentam essa capacidade. Essa diferenciação requer uma ativação sequencial e complexa do precursor T_C por um antígeno processado por uma célula dendrítica, além da interação com uma célula T_H e sinais coestimuladores. O CTL resultante é uma célula efetora que tem a habilidade de reconhecer e matar células-alvo que sejam consideradas não próprias (veja a Figura 17.11). Em primeiro lugar, essas células-alvo são células próprias que foram alteradas por infecção com um patógeno, principalmente vírus. Em sua superfície, elas carregam fragmentos de **antígenos endógenos**, que geralmente são sintetizados dentro da célula e são em sua maior parte de origem viral ou parasitária. Outras células-alvo importantes são células tumorais (veja a Figura 19.10, página 535) e tecidos exógenos transplantados. Mais do que simplesmente reagir com os fragmentos antigênicos apresentados por uma APC no complexo com moléculas de MHC de classe II, a célula $CD8^+$ reconhece antígenos na superfície da célula-alvo que está em combinação com uma molécula de MHC de classe I. As moléculas de MHC de classe I são encontradas nas células nucleadas; portanto, um CTL ataca praticamente qualquer célula do hospedeiro que tenha sido alterada.

Em seu ataque, um CTL se fixa à célula-alvo e libera uma proteína formadora de poros, a **perforina**. A formação de poros con-

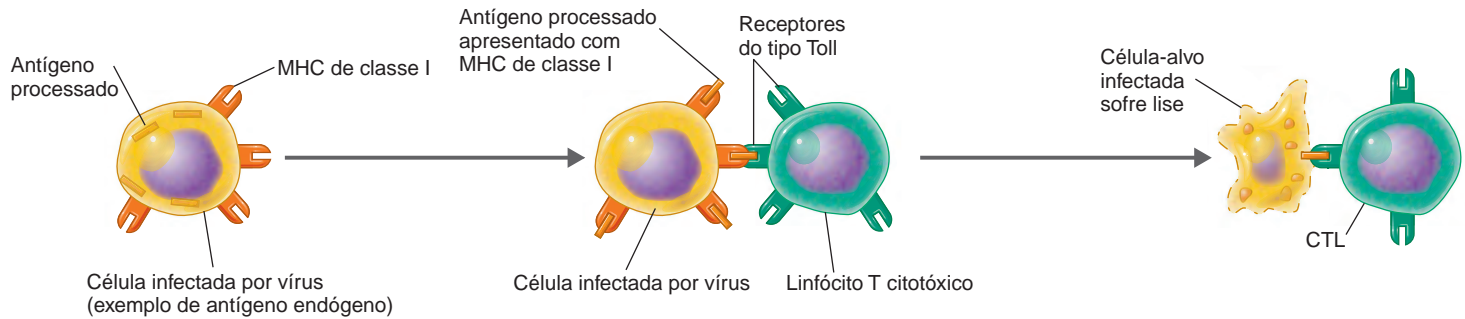



Figura 17.11 **Morte por um linfócito T citotóxico de uma célula-alvo infectada por vírus.**

P Diferencie uma célula CD8$^+$ de uma célula CD4$^+$.

tribui para a morte subsequente da célula-alvo e é similar à ação do complexo de ataque à membrana do complemento, descrita no Capítulo 16 (veja a página 465). As **granzimas**, proteases que induzem a apoptose, são então capazes de penetrar os poros. A **apoptose** (do grego *despencando como folhas*) também é chamada de *morte celular programada*. Células que morrem por apoptose inicialmente têm o seu genoma quebrado em fragmentos, e a membrana externa apresenta uma saliência em direção ao meio externo em um modo chamado de *protrusão* (**Figura 17.12**). Os sinais são expostos na superfície celular que atrai os fagócitos circulantes para digerir os restos antes que ocorra qualquer vazamento significativo dos constituintes. Isso tem a vantagem de impedir que os vírus infecciosos se espalhem para outras células. Também, logo após a apoptose, a resposta imune é finalizada rapidamente, o que diminui o dano não específico ao tecido.

Figura 17.12 **Apoptose.** Uma célula B normal é mostrada na parte inferior. Uma célula B em apoptose é mostrada na parte superior. Observe as protrusões em forma de bolhas.

P O que á apoptose?

Células T reguladoras

As **células T reguladoras (T_{reg})**, antigamente chamadas de *células T supressoras*, constituem aproximadamente 5 a 10% da população de células T. Elas são um subgrupo das células T auxiliares CD4$^+$e são distinguidas por carregar adicionalmente uma molécula CD25. Sua função principal é combater a autoimunidade pela supressão de células T que escapam da deleção no timo sem a "instrução" necessária para evitar a reação contra o próprio corpo. Elas também são úteis na proteção, pelo sistema imune, das bactérias intestinais necessárias para a digestão e outras funções úteis. Do mesmo modo, durante a gravidez elas podem desempenhar um papel ao proteger o feto de uma rejeição como não próprio.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- Que tipo de célula T geralmente está envolvido quando uma célula B reage com um antígeno e produz anticorpos contra ele? **17-12**
- Que tipo de célula T geralmente está envolvido nas reações alérgicas? **17-13**
- Qual é o outro nome para apoptose, aquele que descreve sua função? **17-14**

Células apresentadoras de antígeno (APCs)

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-15 Definir *célula apresentadora de antígeno.*

Figura 17.13 **Uma célula dendrítica.** Essas células apresentadoras de antígeno são assim chamadas devido aos seus braços longos, ou dendritos. Elas são abundantes principalmente na pele e nas membranas mucosas.

P **Qual é a função das células dendríticas na imunidade?**

Figura 17.14 **Macrófagos ativados.** Quando ativados, os macrófagos ficam maiores e enrugados.

P **Como os macrófagos são ativados?**

Embora as células B sejam uma forma de célula apresentadora de antígeno (APC), discutida na imunidade humoral, agora consideraremos outras APCs que estão relacionadas com a imunidade celular. Essas APCs são as células dendríticas e os macrófagos ativados.

Células dendríticas

As **células dendríticas** (DCs, de *dendritic cells*) são caracterizadas por longas extensões chamadas de dendritos (**Figura 17.13**), pois se assemelham aos dendritos das células nervosas. Elas foram inicialmente identificadas em estudos anatômicos da pele conduzidos por Langerhans em 1868, sendo que as DCs na pele e no trato genital são ainda chamadas de *células de Langerhans*, ou *DC de Langerhans*. (Vacinas injetadas entre as camadas da pele, onde há mais DCs, frequentemente são mais eficazes que as injeções musculares.) Essa é apenas uma de pelo menos quatro populações de DCs denominadas por sua origem ou localização. Outras populações são encontradas nos linfonodos, no baço, no timo, no sangue e em vários tecidos, exceto o cérebro. As DCs que agem como sentinelas nesses tecidos engolfam micróbios invasores, degradando-os e transferindo-os para os linfonodos para apresentação às células T lá presentes. As DCs são as principais APCs responsáveis pela indução das respostas imunes por células T. Os macrófagos, embora mais eficazes para a fagocitose, são menos eficientes na apresentação do antígeno às células T na imunidade celular, porém desempenham uma função importante nos estágios mais tardios da resposta adaptativa.

Macrófagos

Os **macrófagos** (do grego *grandes ingestores*) geralmente são células encontradas em estado de repouso. Já discutimos a função dos macrófagos na fagocitose. Eles são importantes para a imunidade inata e para livrar o corpo de células sanguíneas velhas e outros debris celulares, como os restos celulares da apoptose. Suas capacidades fagocíticas são bastante aumentadas quando são estimulados a se tornar **macrófagos ativados** (**Figura 17.14**). Essa ativação pode ser iniciada pela ingestão de material antigênico. Outros estímulos, como as citocinas produzidas por uma célula T auxiliar, podem posteriormente intensificar suas capacidades. Uma vez ativados, os macrófagos são mais eficazes como fagócitos e como APCs. Macrófagos ativados são fatores importantes no controle de células cancerosas e patógenos intracelulares, como o bacilo da tuberculose, e de células infectadas por vírus. Sua aparência também se torna reconhecidamente diferente – elas ficam maiores e com rugas.

Após a captura de um antígeno, as APCs tendem a migrar para os linfonodos ou outros centros linfoides na mucosa, onde apresentam o antígeno às células T lá presentes. Células T carregando receptores capazes de se ligar a qualquer antígeno específico estão presentes em quantidade relativamente limitada. A migração aumenta a oportunidade dessas células T em particular de encontrar o antígeno para o qual elas são específicas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ As células dendríticas são consideradas parte principal do sistema imune humoral ou celular? **17-15**

Morte extracelular pelo sistema imune

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-16 Descrever a função das células assassinas naturais.

Vimos como a ação de um CTL pode levar à destruição de uma célula-alvo. Um componente do sistema imune inato que ainda não foi discutido também pode destruir certas células tumorais ou células infectadas por vírus. São os leucócitos granulares (10 a 15% dos linfócitos circulantes) chamados de **células assassinas naturais** (**células NK**, de *natural killer*). Elas também podem atacar parasitas, os quais geralmente são muito maiores que as bactérias, como ilustrado na Figura 17.15. Em contraste aos CTLs, as células NK não são imunologicamente específicas; isto é, não precisam ser estimuladas por um antígeno. Elas primeiramente encontram a célula-alvo e determinam se a célula expressa antígenos próprios de MHC de classe I. Caso não expresse – o que ocorre com certa frequência nos estágios iniciais de uma infecção viral e com alguns vírus infectantes que tenham desenvolvido um sistema de interferência com a apresentação usual de antígenos em uma APC – elas matam a célula-alvo por mecanismos similares aos de um CTL. As células tumorais também apresentam um número reduzido de moléculas de MHC de classe I em sua superfície. Células NK causam a formação de poros na célula-alvo, o que resulta em lise celular ou apoptose.

As funções das células NK e de outras células principais envolvidas na imunidade celular estão resumidas na **Tabela 17.2.**

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como a célula assassina natural responde se a célula-alvo não apresenta moléculas de MHC de classe I em sua superfície? **17-16**

Citotoxicidade celular dependente de anticorpo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-17 Descrever a função dos anticorpos e das células assassinas naturais na citotoxicidade celular dependente de anticorpo.

Com o auxílio dos anticorpos produzidos pelo sistema imune humoral, o sistema imune mediado por células pode estimular as células NK (veja a página 454) e as células do sistema de defesa inato, como os macrófagos, a matarem células-alvo. Desse modo, um organismo como um protozoário ou um helminto, que é muito grande para ser fagocitado, pode ser atacado pelas células do sistema imune. Isso é referido como **citotoxicidade celular dependente de anticorpo** (**ADCC**, de *antibody-dependent cell-mediated citotoxicity*). Conforme ilustrado na **Figura 17.15**, a célula-alvo é primeiramente recoberta com anticorpos. Uma variedade de células do sistema imune se liga às regiões F_C desses anticorpos, e dessa maneira à célula-alvo, que é então rompida por substâncias secretadas pelas células agressoras.

Tabela 17.2 Principais células que participam na imunidade mediada por células

Célula	Função
Célula T auxiliar T_H1	Ativa células relacionadas à imunidade mediada por células: macrófagos, células T_C e células assassinas naturais
Célula T auxiliar T_H2	Estimula a produção de eosinófilos, IgM e IgE
Linfócitos T citotóxicos (CTLs)	Destroem células alvo durante o contato; geradas a partir de células T citotóxicas (T_C)
Célula T reguladora (T_{reg})	Regula a resposta imune e ajuda a manter a tolerância
Macrófago ativado	Atividade fagocitária intensa; ataca células cancerosas
Célula assassina natural (NK)	Ataca e destrói células-alvo; participa na citotoxicidade celular dependente de anticorpo

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O que faz uma célula assassina natural, que não é imunologicamente específica, atacar uma célula-alvo em particular? **17-17**

Citocinas: mensageiros químicos das células imunológicas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-18 Identificar pelo menos uma função de cada um dos seguintes mensageiros: citocinas, interleucinas, quimiocinas, interferons, TNF e citocinas hematopoiéticas.

O sistema imune requer interações complexas entre diferentes células. A comunicação necessária para isso é mediada por mensageiros químicos chamados de **citocinas** (do grego *célula* e *movimentar*). Essas substâncias químicas são proteínas solúveis ou glicoproteínas produzidas por praticamente todas as células do sistema imune em resposta a um estímulo. Muitas citocinas – há provavelmente mais de duzentas – têm nomes comuns que refletem suas funções conhecidas no momento de sua descoberta; sabe-se agora que algumas apresentam múltiplas funções. Uma citocina age apenas sobre uma célula que apresenta um receptor para ela.

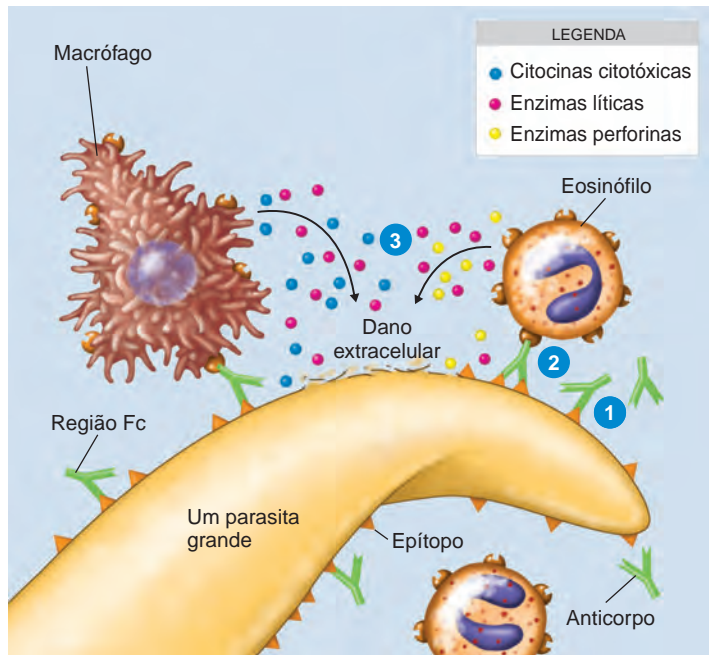
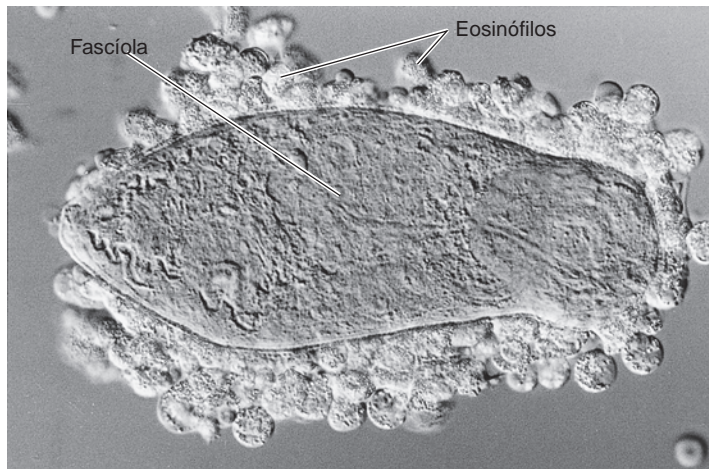
Citocinas que servem como comunicadores entre os leucócitos (células brancas do sangue) são agora conhecidas como **interleucinas** (entre leucócitos). Quando uma informação suficiente, que inclui a sequência de aminoácidos, é conhecida, a essas citocinas é atribuído um número de interleucina, como a IL-1, e assim por diante, por um comitê internacional.

(a) Organismos, como vários parasitas, que são muito grandes para a ingestão por células fagocitárias devem ser atacados externamente.

(b) Eosinófilos aderindo-se a uma fascíola em seu estágio de larva.

Figura 17.15 Citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC). Se um organismo, como um verme parasitário, é muito grande para a ingestão e a destruição por fagocitose, ele pode ser atacado pelas células do sistema imune que permanecem externas a ele. ❶ A célula-alvo é primeiramente recoberta com anticorpos. ❷ Células do sistema imune, como os eosinófilos, os macrófagos e as células NK (não mostrado), se ligam às regiões Fc dos anticorpos fixados. ❸ A célula-alvo então sofre lise causada pelas substâncias secretadas pelas células do sistema imune.

P Por que a ADCC é importante para a proteção contra protozoários parasitas e helmintos?

A participação das citocinas na estimulação do sistema imune tem levado ao seu uso como agentes terapêuticos (veja o quadro na próxima página).

Uma família de pequenas citocinas que induz a migração de leucócitos para as áreas de infecção ou de dano ao tecido é conhecida como **quimiocinas**, de *quimiotaxia*. Elas são importantes na inflamação. Certos receptores de quimiocinas são importantes para a infecção pelo HIV (veja o Capítulo 19, página 541).

Outra família de citocinas é a dos **interferons** (veja a página 468), originalmente designada por uma de suas funções, a de proteger as células da infecção viral. Os interferons são denominados IFN-α, e assim por diante (veja a página 469). Uma quantidade de interferons está disponível como produtos comerciais para o tratamento de distúrbios clínicos como a hepatite e alguns tumores.

Uma família de citocinas muito importante é a do **fator de necrose tumoral**, conhecida pela abreviação de TNF-α, e assim por diante. O termo foi originalmente derivado da observação de que as células tumorais eram um dos alvos do fator. Essas citocinas são importantes nas reações inflamatórias de doenças autoimunes como a artrite reumatoide. Anticorpos monoclonais (veja a página 507) que bloqueiam a ação do TNF são uma terapia disponível para algumas dessas condições clínicas.

Uma família de citocinas, as **citocinas hematopoiéticas**, funciona para controlar as vias pelas quais as células-tronco se desenvolvem em diferentes tipos de hemácias ou células brancas do sangue (veja a página 486). Algumas delas são as interleucinas com designações como IL-3, e assim por diante (algumas são usadas terapeuticamente, como descrito no quadro da página 493); outras são denominadas *fatores estimuladores de colônias* (CSFs, de *colony stimulating factors*). Um exemplo é o G-CSF (fator estimulador de colônia de granulócitos). Esse CSF em particular estimula a produção de neutrófilos a partir de seus precursores granulócitos/monócitos. Outro, o GM-CSF, é utilizado terapeuticamente para aumentar o número de macrófagos e granulócitos protetores em pacientes que receberam transplantes de medula óssea.

As citocinas, entre outras coisas, podem estimular as células a produzirem mais citocinas. Essa alça de retroalimentação ocasionalmente fica fora de controle, resultando em superprodução nociva de citocinas – uma **tempestade de citocinas**. Isso pode causar dano significativo aos tecidos, o que parece ser importante na patologia de certas doenças e distúrbios clínicos como influenza, transplantes e sepse. Ainda, veja a discussão sobre superantígenos na página 436.

P&R Você aprendeu que existem diversos mecanismos em funcionamento para impedir que o sistema imune adaptativo reaja a ele próprio. Entre eles está a deleção de células do sistema imune que falham em reconhecer os próprios tecidos do hospedeiro. Eles também incluem o complexo principal de histocompatibilidade, como o encontrado nas células apresentadoras de antígeno (veja a Figura 17.11), que devem se combinar com os antígenos exógenos antes que eles estimulem as reações imunes celular ou humoral. Existem ainda várias questões que não foram total-

Interleucina-12: a próxima “bala mágica”?

Mundialmente, as enfermidades relacionadas ao HIV/Aids matam 3 milhões de pessoas, e o sarampo mata 1 milhão de pessoas por ano. Se os testes laboratoriais são uma indicação do futuro, a citocina IL-12 (interleucina-12) poderia ser a “bala mágica” contra o câncer e muitas outras doenças.

Desde a sua descoberta na década de 1980, a IL-12 provou ser diferente de outros tipos de citocinas. Ela inibe a resposta humoral e ativa a imunidade celular T_H1 (veja a Figura A).

Cientistas do Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infecciosas dos Estados Unidos (NIAID, de *National Institute of Allergy and Infectious Diseases*) descobriram que o tratamento de camundongos com IL-12 pode ajudar na ativação de fagócitos para matar fungos *Histoplasma*, protozoários *Leishmania*, *Cryptosporidium* e *Toxoplasma gondii*, assim como *Mycobacterium avium*. Os três últimos são de infecções oportunistas em pessoas que apresentam estágio avançado da Aids. Recentemente, o NIAID iniciou o recrutamento de pessoas que apresentavam ao mesmo tempo Aids e *Mycobacterium avium* em um ensaio clínico para testar a IL-12.

Os pesquisadores demonstraram que o HIV e o vírus do sarampo diminuem a produção de IL-12, o que pode deixar os pacientes mais suscetíveis a infecções secundárias. Porém, quando tratados com IL-12, as células T_H obtidas de pacientes HIV-positivos responderam aos vírus, incluindo o HIV.

A IL -12 é conhecida por sua capacidade de inibir aproximadamente 20 tipos de tumores em camundongos pela inibição do crescimento de vasos sanguíneos dos tumores. Vários ensaios clínicos estão em andamento para testar a eficácia da IL-12 em pacientes com câncer de rim avançado.

Uma vez que a IL-12 ativa a via de T_H1, ela pode causar sintomas associados com doenças inflamatórias crônicas, incluindo doença de Crohn, psoríase, artrite reumatoide e esclerose múltipla. Pesquisadores do NIAID desenvolveram o conceito de bloqueio da IL-12 em pacientes com essas doenças. Existem duas maneiras de bloquear a IL-12. Uma utiliza o RNAi para bloquear a transcrição, impedindo dessa maneira a produção e a secreção de IL-12. Outra maneira, que usa anticorpos monoclonais que se ligam à IL-12 secretada, foi testada em mais de 300 pacientes com psoríase em 2007. Os pacientes apresentaram grande melhora após o tratamento com anticorpos monoclonais anti-IL-12, em comparação com os pacientes tratados apenas com placebo.

Será a IL-12 uma panaceia? Mais estudos são necessários para determinar se o tratamento com a IL-12 pode ter efeitos adversos, como a doença autoimune, ou se o bloqueio da IL-12 pode permitir o crescimento de células cancerosas.

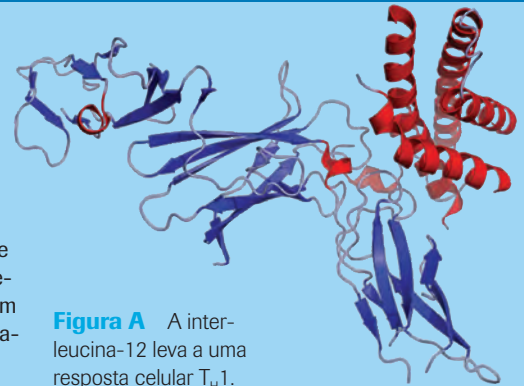



Figura A A interleucina-12 leva a uma resposta celular T_H1.

mente respondidas, como por que o corpo não rejeita o feto, que é não próprio.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Qual é a função das citocinas? **17-18**

Memória imunológica

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-19 Distinguir resposta imune secundária e primária.

A intensidade da resposta humoral mediada por anticorpo pode ser determinada pelo **título de anticorpo**, a quantidade relativa de anticorpo no soro. Após contato inicial com um antígeno, o soro da pessoa exposta não apresenta qualquer anticorpo detectável por 4 a 7 dias. Então ocorre um aumento lento no título de anticorpo: primeiro, anticorpos da classe IgM são produzidos, seguido por um pico de IgG em aproximadamente 10 a 17 dias, após o qual o título de anticorpo declina gradualmente. Esse padrão é característico de uma **resposta primária** a um antígeno.

As respostas imunes mediadas por anticorpo de um hospedeiro se intensificam após uma exposição secundária a um antígeno. Essa **resposta secundária** também é chamada de **resposta de memória** (ou **anamnéstica**). Como mostrado na Figura 17.16, essa resposta é relativamente mais rápida, alcançando um pico em apenas 2 a 7 dias e dura vários dias e é consideravelmente maior em magnitude. Para fins explicativos, como mostrado na Figura 17.5, algumas células B ativadas não se tornam plasmócitos produtores de anticorpo, mas persistem como células de vida longa e não como

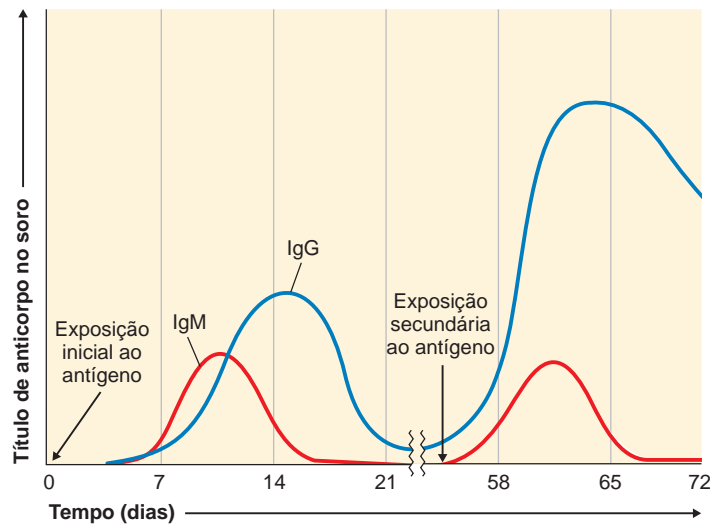



Figura 17.16 As respostas primária e secundária a um antígeno. IgM aparece primeiro em resposta à exposição inicial. IgG vem em seguida e proporciona imunidade de longo prazo. A exposição secundária ao mesmo antígeno estimula as células de memória (formadas na época da exposição inicial) produzirem rapidamente uma grande quantidade de anticorpos. Os anticorpos produzidos em resposta a esta exposição secundária são IgG em sua maioria.

P Por que muitas doenças, como o sarampo, ocorrem apenas uma vez em uma pessoa, enquanto outras, como resfriados, ocorrem mais vezes?

Figura 17.17 Tipos de imunidade adaptativa.

P Que tipo de imunidade dura mais tempo, a ativa ou a passiva?

células de memória não proliferativas. Anos, ou até mesmo décadas mais tarde, se essas células forem estimuladas pelo mesmo antígeno, se diferenciam muito rapidamente em plasmócitos produtores de anticorpo.

Uma resposta similar ocorre com as células T, as quais, como visto no Capítulo 19, são necessárias para estabelecer uma memória por toda a vida para distinguir o próprio do não próprio.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A resposta anamnéstica é primária ou secundária? **17-19**

Tipos de imunidade adaptativa

OBJETIVO DO APRENDIZADO

17-20 Contrastar os quatro tipos de imunidade adaptativa.

A imunidade adaptativa refere-se à proteção que um animal desenvolve contra certos tipos de micróbios específicos ou substâncias estranhas. As várias manifestações da imunidade adaptativa estão resumidas na **Figura 17.17**.

A imunidade pode ser adquirida ativa ou passivamente. A imunidade é adquirida *ativamente* quando o sistema imune de uma pessoa responde à exposição a micro-organismos ou substâncias estranhas. A imunidade é adquirida *passivamente* quando anticorpos são transferidos de uma pessoa para a outra. A imunidade passiva no recipiente (na pessoa que recebe) dura enquanto os anticorpos estiverem presentes – em muitos casos, algumas poucas semanas. Tanto a imunidade adquirida ativamente quanto a adquirida passivamente podem ser obtidas por meios naturais ou artificiais.

- A **imunidade ativa adquirida naturalmente** se desenvolve quando uma pessoa é exposta a antígenos, torna-se enferma, e então se recupera. Uma vez adquirida, a imunidade permanece por toda a vida para algumas doenças, como o sarampo. Para outras, principalmente as doenças intestinais, a imunidade pode durar apenas alguns anos. Infecções subclínicas ou infecções inaparentes (aquelas que não produzem sintomas notáveis ou sinais de enfermidade) também podem conferir imunidade.
- A **imunidade passiva adquirida naturalmente** envolve a transferência natural de anticorpos da mãe para seu bebê. Anticorpos de uma mulher grávida cruzam a placenta em direção ao feto – *transferência transplacentária*. Se a mãe é imune a difteria, rubéola ou pólio, por exemplo, o recém-nascido estará temporariamente imune a essas doenças. Certos anticorpos também são transferidos pelo leite da mãe para o bebê na amamentação, principalmente nas primeiras secreções, chamada *colostro*. No bebê, essa imunidade passiva dura enquanto os anticorpos transmitidos persistirem – geralmente algumas semanas ou meses. Esses anticorpos maternos são essenciais para fornecer imunidade ao bebê até que o seu próprio sistema imune se desenvolva. O colostro é ainda mais importante para outros mamíferos; bezerros, por exemplo, não têm anticorpos que cruzam a placenta, dependendo então do colostro ingerido durante o primeiro dia de vida. Os pesquisadores geralmente recomendam soro fetal de bezerro para certas aplicações experimentais, pois não contém anticorpos maternos.

- A **imunidade ativa adquirida artificialmente** é o resultado da **vacinação** – discutida no Capítulo 18. A vacinação, também chamada de **imunização**, introduz **vacinas** no corpo. Esses antígenos incluem micro-organismos mortos ou vivos ou toxinas bacterianas inativas.
- A **imunidade passiva adquirida artificialmente** envolve de preferência a injeção de anticorpos a antígenos no organismo. Esses anticorpos podem ser de um animal ou uma pessoa que já esteja imune à doença.

Uma vez que o sangue é facilmente obtido (veja o quadro na página 467) e contém uma concentração considerável de anticorpos, o **antissoro** tornou-se um termo genérico para os fluidos corporais que contêm anticorpos. Desse modo, o estudo das reações entre os anticorpos e os antígenos é chamado de **sorologia**. Como mostrado na **Figura 17.18**, quando uma amostra de soro é submetida a uma corrente elétrica em gel de eletroforese em um laboratório (veja o Capítulo 9), as proteínas dissolvidas no soro se movem a taxas distintas. As proteínas globulinas se separam em frações que são designadas alfa (α), beta (β) e gama (γ) por causa de suas mobilidades. Pelo fato de a fração gama, chamada de **gamaglobulina**, conter muitos dos anticorpos, ela geralmente é utilizada para transferir imunidade passiva.

Quando a globulina do soro imune de uma pessoa que está imune a uma doença é injetada em outra pessoa, ela confere uma proteção passiva imediata contra a doença. Entretanto, embora a imunidade passiva adquirida artificialmente seja imediata, ela é de vida curta, pois os anticorpos são degradados pelo recipiente. A meia-vida de um anticorpo injetado (o tempo necessário para metade dos anticorpos desaparecer) tipicamente é de cerca de três semanas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que tipo de imunidade adaptativa está envolvido quando a gamaglobulina é injetada em uma pessoa? **17-20**

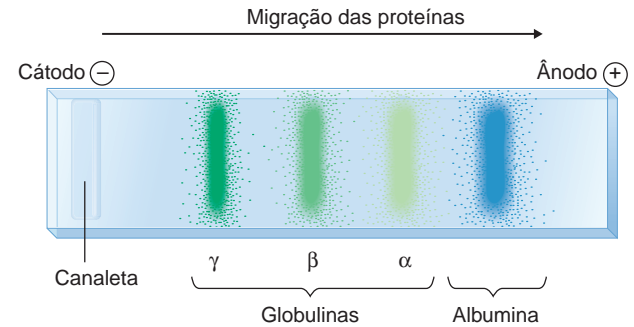



Figura 17.18 Separação de proteínas do soro por eletroforese em gel. Neste procedimento, o soro é adicionado a uma cavidade no gel. Em resposta a uma corrente elétrica, as proteínas do soro carregadas negativamente migram através do gel da extremidade carregada negativamente (cátodo) para a extremidade carregada positivamente (ânodo).

P Que fração do soro contém mais anticorpos?

* * *

Este capítulo sobre imunologia tem a intenção de oferecer a você os conceitos gerais sobre o assunto. Deve fornecer a informação que você precisa para entender os capítulos que se seguem, enfatizando alguns dos aspectos clínicos e mais práticos da imunologia. Esse pode ser um assunto muito complexo; alguns de vocês, em busca de uma carreira acadêmica, terão mais tarde um curso completo de imunologia e estudarão o assunto em mais detalhe. A apresentação aqui foi consideravelmente simplificada – embora você talvez nem tenha percebido. A **Figura 17.19** resume o que foi abordado neste capítulo, enfatizando principalmente a natureza dupla da imunologia.

Figura 17.19

FIGURA FUNDAMENTAL A natureza dupla do sistema imune adaptativo

Esta figura resume as funções do sistema imune adaptativo abordadas no Capítulo 17. Observe a Figura 16.1, página 450, e veja como a imunidade se encaixa dentro de um cenário maior das defesas do organismo. Os conceitos básicos da imunidade resumidos aqui são necessários para a compreensão dos aspectos práticos e clínicos da imunologia abordados nos capítulos subsequentes.

Conceito-chave

O sistema imune adaptativo é dividido em duas partes, cada uma responsável por lidar com os patógenos de diferentes maneiras. A imunidade humoral, também chamada de imunidade mediada por anticorpo, é direcionada para os patógenos livres circulantes e depende de células B. A imunidade celular, também chamada de imunidade mediada por células, depende de células T para eliminar patógenos intracelulares, rejeitar tecidos estranhos reconhecidos como não próprios e destruir células tumorais. Esses dois sistemas funcionam de modo interdependente para manter o organismo livre de patógenos.

RESUMO PARA ESTUDO

Sistema imune adaptativo (p. 477)

1. A resistência geneticamente predeterminada de uma pessoa a certas doenças é chamada de imunidade inata.
2. Imunidade adaptativa é a habilidade do corpo de reagir especificamente a uma infecção microbiana.

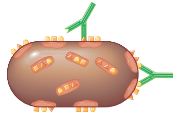
Natureza dupla do sistema imune adaptativo (p. 477, 478)

1. As células da medula óssea produzem linfócitos, os quais amadurecem na medula óssea e tornam-se células B.
2. A imunidade humoral envolve anticorpos, que são encontrados no soro e na linfa e são produzidos pelas células B.
3. Os linfócitos que migram através do timo tornam-se células T. A imunidade celular envolve as células T.
4. Os receptores de células T reconhecem os antígenos.

Antígenos e anticorpos (p. 478-481)

A natureza dos antígenos (p. 478, 479)

1. Um antígeno (ou imunógeno) é uma substância química que estimula o corpo a produzir anticorpos específicos.
2. Em geral, antígenos são proteínas ou grandes polissacarídeos. Anticorpos são formados contra regiões específicas nos antígenos chamadas de epítopos, ou determinantes antigênicos.

3. Um hapteno é uma substância de baixo peso molecular que não pode causar a formação de anticorpos a menos que seja combinada com uma molécula carreadora; os haptenos reagem com seus anticorpos independentemente da molécula carreadora.

A natureza dos anticorpos (p. 479-481)

4. Um anticorpo, ou imunoglobulina, é uma proteína produzida por células B em resposta a um antígeno, sendo capaz de se combinar especificamente com ele.
5. Monômeros típicos consistem em quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias pesadas e duas cadeias leves.
6. Dentro de cada cadeia existe uma região variável (V), que se liga ao epítopo, e uma região constante (C), que distingue as diferentes classes de anticorpos.
7. Um monômero de anticorpo apresenta forma de Y ou T: as regiões V formam as extremidades, e as regiões C formam a base e a região F_c (haste).
8. A região F_c pode se fixar a uma célula hospedeira ou ao complemento.
9. Anticorpos IgG são os mais prevalentes no soro; eles oferecem imunidade passiva adquirida naturalmente, neutralizam toxinas bacterianas, participam da fixação do complemento e intensificam a fagocitose.
10. Anticorpos IgM consistem em cinco monômeros unidos por uma cadeia de junção; eles estão envolvidos na aglutinação e na fixação do complemento.
11. Anticorpos IgA séricos são monômeros; anticorpos IgA de secreção são dímeros que protegem as superfícies da mucosa da invasão por patógenos.
12. Anticorpos IgD estão nas células B; eles podem deletar células B que produzem anticorpos contra o próprio (*self*).
13. Anticorpos IgE se ligam aos mastócitos e basófilos, estando envolvidos nas reações alérgicas.

Células B e imunidade humoral (p. 481-484)

Seleção clonal de células produtoras de anticorpos (p. 482-484)

1. Células-tronco da medula óssea originam as células B com IgM e IgD em suas superfícies, que reconhecem epítopos específicos.
2. Para antígenos T-dependentes, as células B são selecionadas por antígenos com epítopos que se repetem.
3. Para antígenos T-independentes, as células B são ativadas por uma célula T, que foi ativada por um fragmento antigênico apresentado com o MHC II do hospedeiro.
4. Células B ativadas se diferenciam em plasmócitos e células de memória.
5. As células B que reconhecem o próprio (*self*) são eliminadas por deleção clonal.

Diversidade de anticorpos (p. 484)

6. Durante o desenvolvimento, os genes nas células B embrionárias se recombinam para que as células B maduras tenham diferentes genes para as regiões V de seus anticorpos.

Ligação antígeno-anticorpo e suas consequências (p. 484-486)

1. Um complexo antígeno-anticorpo se forma quando um anticorpo se liga aos seus epítopos específicos em um antígeno.
2. A aglutinação ocorre quando um anticorpo se combina com epítopos em duas células diferentes.
3. A opsonização intensifica a fagocitose de um antígeno.
4. Anticorpos que se fixam a micróbios ou toxinas causam neutralização.
5. A ativação do complemento resulta em lise celular.

Células T e imunidade celular (p. 486-489)

1. Células-tronco da medula óssea originam células T, que amadurecem no timo. A seleção tímica remove as células T que não reconhecem as moléculas próprias do MHC.
2. Os receptores de células T reconhecem antígenos nas células T.
3. As células T reconhecem antígenos processados por células apresentadoras de antígenos.
4. As células T reconhecem antígenos em associação com o MHC em uma APC.

Classes de células T (p. 487)

5. As células T são classificadas de acordo com suas funções e as glicoproteínas presentes na superfície celular chamadas de grupos de diferenciação (CDs).

Células T auxiliares (células T CD4$^+$) (p. 487, 488)

6. As células T_H1 ativam as células envolvidas na imunidade celular.
7. As células T_H2 estão associadas a reações alérgicas e infecções parasitárias.
8. As células T auxiliares, ou células T CD4$^+$, são ativadas por MHC de classe II nas APCs. Após ligação a uma APC, as células T CD4$^+$ secretam citocinas que ativam outras células T e células B.

Células T citotóxicas (células T CD8$^+$) (p. 488, 489)

9. As células T citotóxicas (T_C), ou células T CD8$^+$, são ativadas por antígenos endógenos e MHC de classe I em uma célula-alvo, sendo transformadas em um CTL.
10. Os CTLs causam a lise ou induzem a apoptose na célula-alvo.

Células T reguladoras (p. 489)

11. As células T reguladoras (T_{reg}) suprimem as células T contra o próprio (*self*).

Células apresentadoras de antígeno (APCs) (p. 489, 490)

1. As APCs incluem células B, células dendríticas e macrófagos.
2. As células dendríticas são as principais APCs.
3. Os macrófagos ativados são APCs e fagócitos eficazes.
4. As APCs carregam antígenos para os tecidos linfoides onde se localizam as células T que reconhecem o antígeno.

Morte extracelular pelo sistema imune (p. 491)

1. Células assassinas naturais (NK) lisam células infectadas por vírus, células tumorais e parasitas. Elas matam as células que não expressam antígenos MHC de classe I.

Citotoxicidade celular dependente de anticorpo (p. 491)

1. Na citotoxicidade celular dependente de anticorpo, as células NK e os macrófagos causam a lise das células recobertas por anticorpos.

Citocinas: mensageiros químicos das células imunológicas (p. 491-493)

1. As células do sistema imune se comunicam umas com as outras através de moléculas chamadas de citocinas.
2. As interleucinas (ILs) são citocinas que atuam como comunicadores entre os leucócitos.
3. As quimiocinas estimulam os leucócitos a migrarem para uma infecção.
4. O inteferon-α e o interferon-β protegem as células contra os vírus. O interferon-γ intensifica a fagocitose.
5. O fator de necrose tumoral promove a reação inflamatória.
6. As citocinas hematopoiéticas promovem o desenvolvimento das células brancas do sangue.
7. A produção exagerada de citocinas leva a uma tempestade de citocinas, que resulta em dano ao tecido.

Memória imunológica (p. 493-494)

1. A quantidade relativa de anticorpo no soro é chamada de título de anticorpo.
2. A resposta do organismo ao primeiro contato com um antígeno é chamada de resposta primária, sendo caracterizada pelo aparecimento de IgM e IgG.
3. O contato subsequente com o mesmo antígeno resulta em um título de anticorpo bastante alto e é chamado de resposta secundária, anamnéstica ou de memória. Os anticorpos são principalmente IgG.

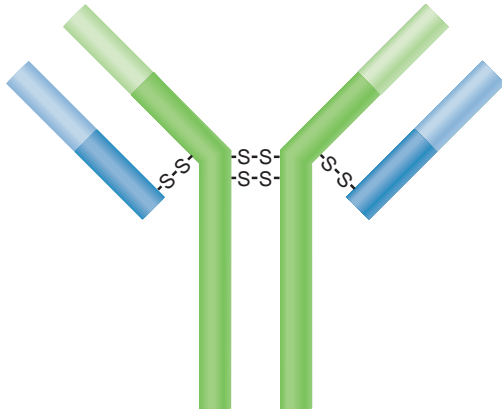
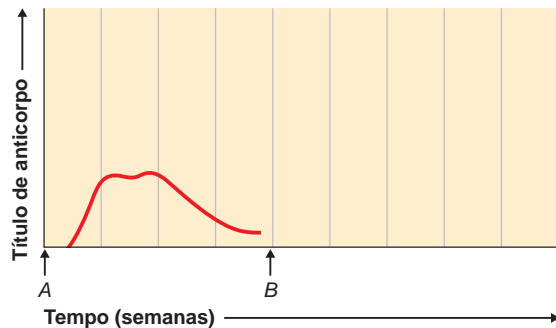
Tipos de imunidade adaptativa (p. 494-496)

1. A imunidade que resulta de uma infecção é chamada de imunidade ativa adquirida naturalmente; esse tipo de imunidade pode ser de longa duração.
2. Anticorpos transferidos de uma mãe para um feto (transferência transplacentária) ou recém-nascido através do colostro resultam em imunidade passiva adquirida naturalmente; esse tipo de imunidade pode durar alguns meses.
3. A imunidade que resulta da vacinação é chamada de imunidade ativa adquirida artificialmente e pode ser de longa duração.
4. A imunidade passiva adquirida artificialmente refere-se a anticorpos humorais adquiridos por injeção; esse tipo de imunidade pode durar algumas semanas.
5. O soro contendo anticorpos geralmente é chamado de antissoro.
6. Quando o soro é separado por eletroforese em gel, os anticorpos são encontrados na fração gama do soro e são denominados globulinas do soro imune, ou gamaglobulinas.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Contraste os seguintes pares de termos:
   a. Imunidade inata e imunidade adaptativa.
   b. Imunidade humoral e imunidade celular.
   c. Imunidade ativa e imunidade passiva.
   d. Células T_H1 e células T_H2.
   e. Imunidade natural e imunidade artificial.
   f. Antígenos T-dependentes e antígenos T-independentes.
   g. Célula CD8$^+$e célula CTL.
   h. Imunoglobulina e TCR.
2. O que significa MHC? Qual é a função do MHC? Que tipos de células T interagem com o MHC de classe I? E com o MHC de classe II?
3. **DESENHE** Identifique as cadeias pesadas, as cadeias leves e as regiões variável e F_C deste anticorpo típico. Indique onde o anticorpo se liga ao antígeno. Faça o esboço de um anticorpo IgM.

4. Faça um diagrama das funções das células T e células B na imunidade.
5. Explique uma função dos seguintes tipos celulares: T_C, T_H e T_{reg}. O que é uma citocina?
6. **DESENHE**
   a. No gráfico a seguir, no tempo *A* o hospedeiro foi injetado com o toxoide tetânico. Mostre a resposta a um reforço feito próximo ao tempo *B*.
   b. Ilustre a resposta do anticorpo desta mesma pessoa à exposição a um novo antígeno indicado no tempo *B*.

7. Como cada um dos seguintes impediria a infecção?
   a. Anticorpos contra as fímbrias de *Neisseria gonorrhoeae*.
   b. Anticorpos contra a manose da célula hospedeira.
8. Como um ser humano pode produzir mais de dez bilhões de anticorpos diferentes com apenas 35.000 genes diferentes?
9. Explique por que uma pessoa que se recupera de uma doença pode ter contato com outros portadores da doença sem medo de contraí-la.

Múltipla escolha

Combine as seguintes opções para as questões 1 a 4:

a. Resistência inata.
b. Imunidade ativa adquirida naturalmente.
c. Imunidade passiva adquirida naturalmente.
d. Imunidade ativa adquirida artificialmente.
e. Imunidade passiva adquirida artificialmente.

1. O tipo de proteção oferecido pela injeção do toxoide diftérico.
2. O tipo de proteção oferecido pela injeção com soro antirrábico.
3. O tipo de proteção que resulta da recuperação de uma infecção.
4. A imunidade de um recém-nascido à febre amarela.

Combine as seguintes opções com as afirmativas nas questões 5 a 7:

a. IgA　　d. IgG
b. IgD　　e. IgM
c. IgE

5. Anticorpos que protegem o feto e o recém-nascido.
6. Os primeiros anticorpos sintetizados; eficazes principalmente contra os micro-organismos.
7. Anticorpos que estão ligados aos mastócitos e envolvidos nas reações alérgicas.
8. Coloque os itens a seguir na sequência correta para iniciar uma resposta de anticorpos: (1) a célula T_H reconhece a célula B; (2) a APC entra em contato com o antígeno; (3) o fragmento antigênico vai para a superfície da APC; (4) o T_H reconhece o antígeno digerido e o MHC; (5) a célula prolifera.
   a. 1, 2, 3, 4, 5.　　d. 2, 3, 4, 1, 5.
   b. 5, 4, 3, 2, 1.　　e. 4, 5, 3, 1, 2.
   c. 3, 4, 5, 1, 2.
9. Um paciente com transplante de rim sofreu uma rejeição citotóxica de seu novo rim. Ordene os seguintes itens para essa rejeição:
   (1) ocorre apoptose; (2) célula T $CD8^+$ torna-se CTL; (3) granzimas liberadas; (4) MHC de classe I ativa célula T $CD8^+$; (5) perforina liberada.
   a. 1, 2, 3, 4, 5.　　d. 3, 4, 5, 1, 2.
   b. 5, 4, 3, 2, 1.　　e. 2, 3, 4, 1, 5.
   c. 4, 2, 5, 3, 1.
10. Pacientes com a síndrome Chédiak-Higashi sofrem de vários tipos de câncer. Esses pacientes muito provavelmente são deficientes em qual dos seguintes:
    a. Células T_R.
    b. Células T_H1.
    c. Células B.
    d. Células NK.
    e. Células T_H2.

Pensamento crítico

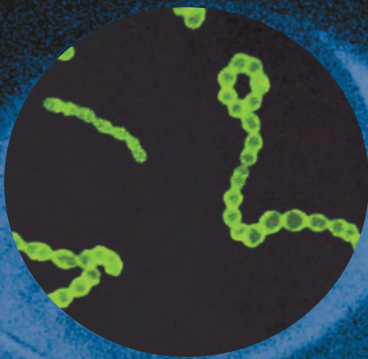
1. Injeções de células T_C removeram completamente todos os vírus da hepatite B de um camundongo infectado, porém mataram apenas 5% das células hepáticas infectadas. Explique como as células T_C curaram o camundongo.
2. Por que a deficiência de proteínas em uma dieta está associada com o aumento da suscetibilidade a infecções?
3. Um teste positivo de tuberculina na pele indica imunidade celular ao *Mycobacterium tuberculosis*. Como uma pessoa poderia adquirir essa imunidade?
4. Em sua viagem de férias à Austrália, Janet foi picada por uma cobra marinha venenosa. Ela sobreviveu porque os médicos do pronto-atendimento injetaram um antiveneno para neutralizar a toxina. O que é antiveneno? Como ele é obtido?

Aplicações clínicas

1. Uma mulher com salmonelose e risco de morte foi tratada com sucesso com anti-*Salmonella*. Por que esse tratamento funcionou enquanto os antibióticos e seu próprio sistema imune falharam?
2. Um paciente com Aids tem uma baixa contagem de células T_H. Por que esse paciente tem problemas para produzir anticorpos? Como ele produz *qualquer* anticorpo?
3. Um paciente com diarreia crônica não apresentava IgA em suas secreções, embora apresentasse um nível normal de IgA sérica. O que esse paciente era incapaz de produzir?
4. Recém-nascidos (menos de um ano) que contraem a febre dengue têm uma chance maior de morrer caso suas mães tenham tido essa febre antes da gravidez. Explique por quê.
5. Uma mulher morreu de infecção bacteriana por *Capnocytophaga* introduzida por uma mordida de cachorro. *Capnocytophaga* mata apenas as pessoas que não têm baço. Que relação existe entre essa infecção e o baço?

18 Aplicações Práticas da Imunologia

No Capítulo 17, aprendemos os conceitos básicos do sistema imune, no qual o organismo reconhece micróbios invasores, toxinas ou tecidos. Em resposta, ele produz anticorpos e ativa outras células do sistema imune que são programadas para reconhecer e neutralizar ou destruir esse material estranho caso o organismo encontre-o novamente.

Neste capítulo, discutiremos algumas ferramentas úteis que foram desenvolvidas a partir do conhecimento básico do sistema imune. As vacinas foram apenas mencionadas no capítulo anterior; neste capítulo vamos expandir nossa discussão desse importante campo da imunologia. O diagnóstico de uma doença muitas vezes depende de testes que usam anticorpos e da especificidade do sistema imune.

SOB O MICROSCÓPIO

Imunofluorescência. Esses estreptococos fluorescem sob a luz ultravioleta, pois os anticorpos marcados com corante estão fixados a eles.

P&R

As bactérias mostradas aqui no microscópio seriam visíveis mesmo se os anticorpos fluorescentes não estivessem fixados a elas. Por que ainda assim esse teste seria valioso para testar organismos como o vírus da raiva?

Procure pela resposta neste capítulo.

Vacinas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

18-1 Definir *vacina.*

18-2 Explicar como a vacinação funciona.

18-3 Diferenciar e citar um exemplo de cada: vacinas atenuadas, vacinas inativadas, vacinas de subunidades, toxoides e vacinas conjugadas.

18-4 Contrastar vacinas de subunidades e vacinas de ácidos nucleicos.

18-5 Comparar e contrastar a produção de vacinas completas, vacinas recombinantes e vacinas de DNA.

18-6 Definir *adjuvante.*

18-7 Explicar a importância das vacinas e discutir os riscos aceitáveis para as vacinas.

Muito antes da invenção das vacinas, sabia-se que as pessoas que se recuperavam de certas doenças, como a varíola, ficavam imunes a elas. Médicos chineses podem ter sido os primeiros a tentar explorar esse fenômeno para prevenir doenças quando fizeram crianças inalar crostas secas de feridas de varíola.

Em 1717, Lady Mary Montagu registrou em suas viagens na Turquia que uma "mulher idosa chega com uma cesta repleta de material das melhores amostras de varíola e pergunta qual veia gostaria que fosse aberta e coloca nela tanto veneno quanto pode caber na cabeça de sua agulha". Essa prática geralmente resultava em uma semana de enfermidade branda, e a pessoa estava subsequentemente protegida contra a varíola. Chamado de **variolação**, esse procedimento tornou-se comum na Inglaterra. Entretanto, infelizmente algumas vezes ele resultava em um caso grave de varíola. Na Inglaterra do século XVIII, a taxa de mortalidade associada com a variolação era de cerca de 1%, certamente uma melhora significativa sobre os 50% de taxa de mortalidade que se poderia esperar da varíola.

Uma pessoa que recebeu esse tratamento aos oito anos de idade foi Edward Jenner. Mais tarde, como médico, Jenner encontrou pacientes que não reagiam com os sintomas comuns à variolação. Muitos deles, em particular as ordenhadeiras, diziam não ter medo da varíola, pois já tinham tido varíola bovina. A varíola bovina é uma doença branda que causa lesões nos úberes das vacas; as mãos das ordenhadeiras frequentemente tornavam-se infectadas durante a ordenha. Motivado por suas lembranças da infância da variolação, Jenner iniciou uma série de experimentos em 1798, nos quais deliberadamente inoculou pessoas com varíola bovina em uma tentativa de prevenir a varíola. Em reconhecimento ao trabalho de Jenner, cunhou-se o termo *vacinação* (do latim *vacca*, que significa vaca). Uma **vacina** é uma suspensão de organismos ou frações de organismos usada para induzir imunidade. Dois séculos mais tarde, a doença da varíola foi erradicada mundialmente pela vacinação, e outras duas doenças virais, o sarampo e a pólio, também estão com os dias contados. Veja o quadro na página 505.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a etimologia (origem) da palavra *vacina*? **18-1**

Princípios e efeitos da vacinação

Hoje sabemos que as inoculações de Jenner funcionaram porque o vírus da varíola bovina, que não é um patógeno grave, está intimamente relacionado ao vírus da varíola humana. A inoculação, feita por raspagem da pele, provocava uma resposta imune primária nos receptores, ocasionando a formação de anticorpos e células de memória por um longo período. Mais tarde, quando o receptor se deparava com o vírus da varíola, as células de memória eram estimuladas, produzindo uma resposta imune secundária rápida e intensa (veja a Figura 17.16, página 494). Essa resposta mimetiza aquela obtida na recuperação da doença. Em pouco tempo, a vacina da varíola foi substituída por uma vacina contendo o vírus da vacínia. O vírus da vacínia também confere imunidade à varíola, embora pouco se saiba com certeza sobre a origem desse importante vírus. Ele é geneticamente distinto do vírus da varíola bovina e pode ser um híbrido de uma mistura acidental dos vírus da varíola bovina e da varíola humana, ou talvez tenha sido em algum momento a causa de uma doença já extinta, como a varíola equina. O desenvolvimento de vacinas com base no modelo da vacina da varíola é a aplicação mais importante da imunologia.

Muitas doenças comunicantes podem ser controladas por métodos comportamentais e ambientais. Por exemplo, o saneamento apropriado pode impedir a disseminação da cólera, e o uso de preservativos pode desacelerar a disseminação de doenças sexualmente transmissíveis. Se a prevenção falhar, as doenças bacterianas geralmente podem ser tratadas com antibióticos. Doenças virais, entretanto, muitas vezes não podem ser tratadas efetivamente. Portanto, a vacinação é na maioria das vezes o único modo possível de controle das doenças virais. Controlar uma doença não significa necessariamente exigir que todas as pessoas sejam imunes a ela. Se a maioria da população estiver imunizada, um fenômeno chamado de *imunidade de rebanho* (ou imunidade coletiva), os surtos serão limitados a casos esporádicos, pois não haverá indivíduos suscetíveis em quantidade suficiente para sustentar a disseminação de uma epidemia.

As principais vacinas utilizadas para prevenir doenças bacterianas e virais nos Estados Unidos estão listadas nas **Tabelas 18.1** e **18.2**. As recomendações para a imunização infantil contra algumas dessas doenças são fornecidas na **Tabela 18.3**. Viajantes norte-americanos que possam de alguma maneira ser expostos à cólera, à febre amarela ou a outras doenças não endêmicas nos Estados Unidos podem obter recomendações atualizadas sobre a imunização pelo Serviço Público de Saúde dos Estados Unidos (*U.S. Public Health Service*) e pelas agências de saúde pública locais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a vacinação com frequência é o único modo possível de controle da maioria das doenças virais? **18-2**

Tipos de vacinas e suas características

Existem hoje vários tipos básicos de vacinas. Algumas das mais modernas tiram proveito do conhecimento e da tecnologia desenvolvidos nos anos recentes.

As **vacinas atenuadas com o agente inteiro** utilizam micro-organismos vivos, porém atenuados (enfraquecidos). Vacinas vivas mimetizam mais fielmente uma infecção real. A imunidade para toda a vida, em particular com vírus, geralmente é obtida sem

Tabela 18.1 Principais vacinas utilizadas nos Estados Unidos para prevenir doenças bacterianas em seres humanos

Doença	Vacina	Recomendação	Reforço
Difteria	Toxoide diftérico purificado	Veja a Tabela 18.3.	A cada 10 anos para adultos.
Meningite meningocóccica	Polissacarídeo purificado de *Neisseria meningitidis*	Para pessoas com risco substancial de infecção. Recomendada para ingressados nas faculdades, sobretudo se utilizam os dormitórios como moradia.	Necessidade não estabelecida.
Pertussis (coqueluche)	Fragmentos acelulares ou material morto inteiro de *Bordetella pertussis*	Crianças antes da idade escolar; veja a Tabela 18.3.	Para adultos com alto risco; disponível para idades entre 10 e 18 anos.
Pneumonia pneumocócica	Polissacarídeo purificado de sete linhagens de *Streptococcus pneumoniae*	Para adultos com certas doenças crônicas; pessoas acima de 65 anos; crianças entre 2 e 23 meses.	Nenhum reforço se a primeira dose administrada ≥ 24 meses.
Tétano	Toxoide tetânico purificado	Veja a Tabela 18.3.	A cada 10 anos para adultos.
Meningite tipo b (*Haemophilus influenzae*)	Polissacarídeo de *Haemophilus influenzae* tipo b conjugado com proteína para intensificar a eficácia	Crianças antes da idade escolar; veja a Tabela 18.3.	Nenhuma recomendação.

reforços, e a taxa de 95% de eficácia não é rara. Essa eficácia de longa duração ocorre provavelmente porque os vírus atenuados se replicam no organismo, aumentando a dose original e agindo como uma série de imunizações secundárias (reforços).

Exemplos de vacinas atenuadas são a vacina Sabin (contra a pólio) e as usadas contra o sarampo, a caxumba e a rubéola (MMR, de *meastes, mumps, rubella*). A vacina amplamente utilizada contra o bacilo da tuberculose e algumas das vacinas contra tifoide administradas por via oral, recentemente apresentadas, contêm bactérias atenuadas. Os micróbios atenuados geralmente são derivados de mutações acumuladas durante cultivos artificiais, de longa duração. Um risco dessas vacinas é que os micróbios vivos podem sofrer mutação para uma forma virulenta (discutido na página 506). As vacinas atenuadas não são recomendadas para pessoas cujo sistema imune esteja comprometido. Se disponíveis, vacinas inativadas devem ser utilizadas.

As **vacinas inativadas com o agente inteiro** utilizam micróbios mortos com formalina ou fenol. As vacinas com vírus inativados utilizadas em seres humanos incluem aquelas contra a raiva (algumas vezes os animais recebem uma vacina viva considerada muito nociva para os seres humanos), a influenza (**Figura 18.1**) e a pólio (vacina Salk). Vacinas de bactérias inativadas incluem aquelas contra pneumonia pneumocócica e cólera. Várias vacinas inativadas utilizadas por longo tempo estão sendo substituídas por tipos novos e mais eficazes, incluindo as vacinas contra coqueluche e febre tifoide.

Os **toxoides**, que são toxinas inativadas, são vacinas dirigidas contra as toxinas produzidas por um patógeno. Por muito tempo, os toxoides do tétano e da difteria têm sido parte da série padrão de imunização infantil. As crianças necessitam de uma série de injeções para adquirir imunidade completa, seguida de reforços a cada 10 anos. Muitos adultos mais idosos não receberam reforços; muito provavelmente, esses adultos têm baixos níveis de proteção.

As **vacinas de subunidades** utilizam apenas fragmentos antigênicos de um micro-organismo que melhor estimulam uma resposta imune. As vacinas de subunidades produzidas por técnicas de manipulação genética, significando que outros micróbios são manipulados para produzir a fração antigênica desejada, são chamadas de **vacinas recombinantes**. Por exemplo, a vacina contra o vírus da hepatite B consiste em uma porção da proteína do capsídeo viral produzida por uma levedura geneticamente modificada.

Figura 18.1 Os vírus da influenza são crescidos em ovos embrionados. (Veja a Figura 13.7, página 377.) Os vírus serão inativados para produzir uma vacina.

P **Esse método de cultivo de vírus poderia ser um problema para pessoas que são alérgicas a ovo?**

As vacinas de subunidades são mais seguras por natureza, pois não podem se reproduzir no receptor. Elas também apresentam pouco ou nenhum material estranho e, portanto, tendem a produzir menos efeitos colaterais. De modo semelhante, é possível separar as frações de uma célula bacteriana fragmentada, pre-

Tabela 18.2 Principais vacinas utilizadas nos Estados Unidos para prevenir doenças virais em seres humanos

Doença	Vacina	Recomendação	Reforço
Influenza	Vacina injetada, vírus inativado (vacina administrada por via nasal com vírus atenuado estará disponível em breve)	Pessoas com doenças crônicas, inclusive crianças com mais de seis meses. Adultos com mais de 65 anos. Crianças saudáveis com idade entre 6 e 23 meses (devido ao maior risco de fatores relacionados à hospitalização). Profissionais da área da saúde e outras pessoas em contato com grupos de alto risco. Pessoas saudáveis com idade entre 5 e 49 anos podem receber vacina intranasal.	Anual
Sarampo	Vírus atenuado	Lactentes com 15 meses.	Adultos caso sejam expostos durante um surto
Caxumba	Vírus atenuado	Lactentes com 15 meses.	Adultos caso sejam expostos durante um surto
Rubéola	Vírus atenuado	Lactentes com 15 meses; mulheres que não estejam grávidas no período entre a puberdade e a menopausa.	Adultos caso sejam expostos durante um surto
Catapora	Vírus atenuado	Lactentes com 12 meses.	(Duração da imunidade desconhecida)
Poliomielite	Vírus morto	Crianças, veja a Tabela 18.3; adultos, de acordo com o risco de exposição.	(Duração da imunidade desconhecida)
Raiva	Vírus morto	Biólogos em contato com vida selvagem em áreas endêmicas; veterinários; pessoas expostas ao vírus da raiva após mordida.	A cada dois anos
Hepatite B	Fragmentos antigênicos do vírus	Crianças, veja a Tabela 18.3; adultos, em particular profissionais da área da saúde, homossexuais, usuários de drogas injetáveis, heterossexuais com múltiplos parceiros, contatos familiares com portadores de hepatite B.	Duração de pelo menos sete anos; necessidade variável de reforços
Hepatite A	Fragmentos antigênicos do vírus	Principalmente para viagens a áreas endêmicas e contatos durante surtos.	Duração da proteção estimada em cerca de 10 anos
Varíola	Vírus da vacínia (vivo)	Certas pessoas ligadas ao serviço militar e profissionais da área da saúde.	Duração da proteção estimada em cerca de 3 a 5 anos
Varicela	Vírus atenuado	Adultos com mais 60 anos.	Nenhuma recomendação
Papiloma	Fragmentos antigênicos do vírus	Todas as mulheres com menos 26 anos.	Duração de pelo menos cinco anos

servando as frações antigênicas desejadas. As **vacinas acelulares** mais recentes contra coqueluche utilizam essa abordagem.

As **vacinas conjugadas** foram desenvolvidas nos últimos anos para lidar com a resposta imune reduzida de crianças a vacinas baseadas em cápsulas polissacarídicas. Como mostrado na Figura 17.6 (página 484), os polissacarídeos são antígenos T-independentes; o sistema imune infantil não responde muito bem a esses antígenos até os 15 aos 24 meses. Entretanto, os polissacarídeos são combinados com proteínas como o toxoide diftérico; essa abordagem proporcionou a bem-sucedida vacina contra *Haemophilus influenzae* tipo b, que confere proteção significativa até mesmo aos dois meses.

As **vacinas de ácido nucleico**, geralmente chamadas de *vacinas de DNA*, estão entre as mais novas e promissoras. Experimentos com animais mostram que plasmídeos de DNA "nu" injetados no músculo resultam na produção de antígeno proteico codificado no DNA. A injeção pode ser feita por agulha convencional ou, de modo mais eficaz, pelo método "*gene gun*" descrito no Capítulo 9, página 253, e na Figura 9.6, que libera a vacina em muitos núcleos celulares da pele. Os antígenos proteicos são transportados à medula óssea e estimulam tanto a imunidade humoral quanto a imunidade celular. Esses antígenos tendem a ser expressos por tempos prolongados, com boa memória imunológica. Entretanto, as vacinas baseadas nas cápsulas polissacarídicas de bactérias não podem ser produzidas por esse método.

Duas vacinas de DNA animais foram aprovadas; uma que protege os cavalos do vírus do Oeste do Nilo, e outra que protege os salmões criados em cativeiro de uma série de doenças virais. Ensaios clínicos em humanos estão em andamento com testes de vacinas de DNA para diferentes doenças; há a expectativa de que a imunização humana com algumas dessas vacinas ocorra nos próximos anos. Tais vacinas apresentariam vantagens específicas para as regiões menos desenvolvidas do mundo. O "*gene gun*" eliminaria a necessidade de um grande fornecimento de seringas e agulhas, e essas vacinas não necessitariam de refrigeração. Os processos de fabricação dessas vacinas são muito semelhantes aos utilizados para a fabricação de vacinas contra diferentes doenças, o que deve minimizar os custos.

Tabela 18.3 **Programa de imunização infantil recomendada para 0 a 6 anos – Estados Unidos, 2008 (CDC)**

<table>
<tr><th>Idade ▶
Vacina ▼</th><th>Nascimento</th><th>1 mês</th><th>2 meses</th><th>4 meses</th><th>6 meses</th><th>12 meses</th><th>15 meses</th><th>18 meses</th><th>19 a 23 meses</th><th>2 a 3 anos</th><th>4 a 6 anos</th></tr>
<tr><td>Hepatite B</td><td>HepB</td><td colspan="2">HepB</td><td></td><td colspan="4">HepB</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Rotavírus</td><td></td><td></td><td>Rota</td><td>Rota</td><td>Rota</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Difteria, Tétano, Coqueluche</td><td></td><td></td><td>DTaP</td><td>DTaP</td><td>DTaP</td><td></td><td colspan="2">DTaP</td><td></td><td></td><td>DTaP</td></tr>
<tr><td>Haemophilus influenzae tipo b (Hib)</td><td></td><td></td><td>Hib</td><td>Hib</td><td>Hib</td><td colspan="2">Hib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Pneumocócica*</td><td></td><td></td><td>PCV</td><td>PCV</td><td>PCV</td><td colspan="2">PCV</td><td></td><td></td><td colspan="2">PCV</td></tr>
<tr><td>Poliovírus inativado (IPV)</td><td></td><td></td><td>IPV</td><td>IPV</td><td colspan="4">IPV</td><td></td><td></td><td>IPV</td></tr>
<tr><td>Influenza</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="6">Influenza (anualmente)</td><td></td></tr>
<tr><td>Sarampo, Caxumba, Rubéola</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2">MMR</td><td></td><td></td><td></td><td>MMR</td></tr>
<tr><td>Varicela</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2">Varicela</td><td></td><td></td><td></td><td>Varicela</td></tr>
<tr><td>Hepatite A†</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="3">HepA (2 doses)</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Meningocócica‡</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2">MCV4</td></tr>
</table>

Nota: As vacinas estão listadas abaixo das idades normalmente recomendadas. As barras indicam a faixa etária recomendada para a imunização. Para aquelas que iniciam mais tardiamente, um programa de atualização deve ser consultado. Informações adicionais em www.cdc.gov/vaccines/rec/schecules, ou http://portal.saude.gov.br/portal/saude/default.cfm

* PVC =vacina pneumocólica conjugada (de *pneumococcal conjugate vaccine*), PPV = vacina pneumocólica polissacarídica (de *pneumococcal polysaccharide vaccine*).

† As duas doses devem ser aplicadas com pelo menos dois meses de intervalo entre elas.

‡ Vacina meningocólica conjugada (MCV4, de *meningococcal conjugate vaccine*) para crianças de 2 a 10 anos com o sistema imune comprometido e outras situações de alto risco.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A experiência tem mostrado que as vacinas atenuadas tendem a ser mais eficazes que as vacinas inativadas. Por quê? **18-3**

✓ Qual vacina provavelmente seja a mais útil para prevenir uma doença causada por uma bactéria encapsulada como o pneumococo: vacina de subunidades ou vacina de ácido nucleico? **18-4**

O desenvolvimento de novas vacinas

Uma vacina eficaz é o método mais desejável para o controle de doenças, pois impede definitivamente que a doença ocorra em uma pessoa e em geral é o meio mais econômico. Isso é importante em especial nos países em desenvolvimento.

Embora o interesse no desenvolvimento de vacinas tenha diminuído com o aparecimento dos antibióticos, ele se intensificou nos últimos anos. O medo de processos contribuiu para diminuir o desenvolvimento de novas vacinas nos Estados Unidos. Entretanto, a aprovação do Ato Nacional da Injúria de Vacina Infantil em 1986, que limita a responsabilidade dos fabricantes de vacinas, ajudou a reverter essa tendência. Mesmo assim, as empresas farmacêuticas descobriram que os medicamentos mais lucrativos são os que devem ser tomados diariamente por períodos prolongados, como, por exemplo, medicamentos administrados para pressão alta. Em contraste, uma vacina que é necessária para somente algumas injeções ou até mesmo uma única vez na vida é inerentemente pouco atrativa.

Historicamente, as vacinas só podiam ser desenvolvidas pelo crescimento do patógeno em grandes quantidades. As primeiras vacinas virais bem-sucedidas foram desenvolvidas pelo cultivo em animal. O vírus da vacínia para a vacina da varíola crescia no ventre raspado de bezerros, por exemplo.

A introdução das vacinas contra a pólio, o sarampo, a caxumba e muitas outras doenças virais, cujos vírus só crescem no organismo humano, teve que aguardar o desenvolvimento das técnicas de cultivo celular. Os cultivos celulares de fontes humanas ou, mais frequentemente, de animais como macacos, que são mais próximos aos humanos, permitiram o crescimento desses vírus em larga escala. Um animal conveniente para o crescimento de muitos vírus é o embrião de galinha (veja a Figura 13.7, página 377). Vírus para diversas vacinas (p. ex., influenza) são crescidos dessa maneira (veja a Figura 18.1). De maneira interessante, a primeira vacina contra o vírus da hepatite B utilizou antígenos virais extraídos do sangue de seres humanos cronicamente infectados, pois não havia outra fonte.

As vacinas recombinantes e de DNA não precisam de uma célula viva ou de um animal hospedeiro para o crescimento do micróbio. Isso evita o principal problema de determinados vírus que até hoje não crescem em cultivos celulares – como o da hepatite B.

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Um problema de saúde mundial

Neste quadro, você encontrará uma série de questões que os cientistas de saúde pública se perguntam quando tentam reduzir a ocorrência das doenças. Tente responder cada questão antes de passar à seguinte.

1. No dia 14 de maio, uma jovem de 17 anos apresentou febre e pequenas manchas avermelhadas com o centro branco-azulado em sua boca (**Figura A**). Ela desenvolveu um exantema na face no dia 16 de maio; o exantema se espalhou sobre o tronco e as extremidades. Em seguida, uma criança de dois anos apresentou febre e pneumonia. No total, 34 pessoas da igreja que ela frequentava desenvolveram exantema maculopapular e febre (≥ 38°C), e pelo menos um dos seguintes sintomas: febre, tosse, conjuntivite e sintomas semelhantes a resfriado.

   Qual é a doença? (*Dica*: Veja a Tabela 21.1, página 589.)

2. O sarampo foi confirmado por testes de anticorpos IgM para sarampo. Essa é uma doença viral altamente contagiosa que pode causar pneumonia, diarreia, encefalite e morte.

   O que você precisa saber?

3. A paciente em questão viajou à Romênia por duas semanas. Ela e outras pessoas infectadas não foram vacinadas contra o sarampo.

   Por que mais pessoas não contraíram o sarampo?

4. Em 1920, antes do desenvolvimento da vacina do sarampo, cerca de 500.000 casos da doença e mais de 7.500 mortes ocorreram nos Estados Unidos. Em 2007, somente 30 casos de sarampo foram registrados nos Estados Unidos (**Figura B**). Entretanto, a doença ainda é endêmica em muitos países (**Figura C**). Mundialmente, existem 70 milhões de casos a cada ano. O sarampo ainda é uma das 20 principais causas de morte, matando 600 crianças por dia.

   O que aconteceria se fosse interrompida a vacinação contra o sarampo?

5. Se não existissem vacinas, haveria muito mais casos da doença. Além de mais doença, haveria graves sequelas e mais mortes. Algumas doenças que podem ser prevenidas pelas vacinas ainda são muito prevalentes em determinadas partes do mundo. Sem qualquer intenção, como aconteceu nesse caso, os viajantes podem levar essas doenças para seu país. Se as pessoas não fossem protegidas pelas vacinações, essas doenças poderiam se espalhar rapidamente na população, causando uma epidemia.

A Iniciativa Sarampo é uma parceria – conduzida pelas instituições Cruz Vermelha Americana, Fundação das Nações Unidas, UNICEF, Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos e a Organização Mundial da Saúde – comprometida em reduzir as mortes por sarampo ao redor do mundo. A Iniciativa Sarampo tem proporcionado a vacinação de mais de 400 milhões de crianças em mais de 50 países. Em 2000, o sarampo causou cerca de 750.000 mortes, a maioria de crianças com menos de cinco anos. Até 2006, as mortes por sarampo haviam sido reduzidas para 242.000 pessoas no mundo inteiro.

Fonte: Adaptado de *MMWR* 54(42):1073-1075, 28 de outubro de 2005.

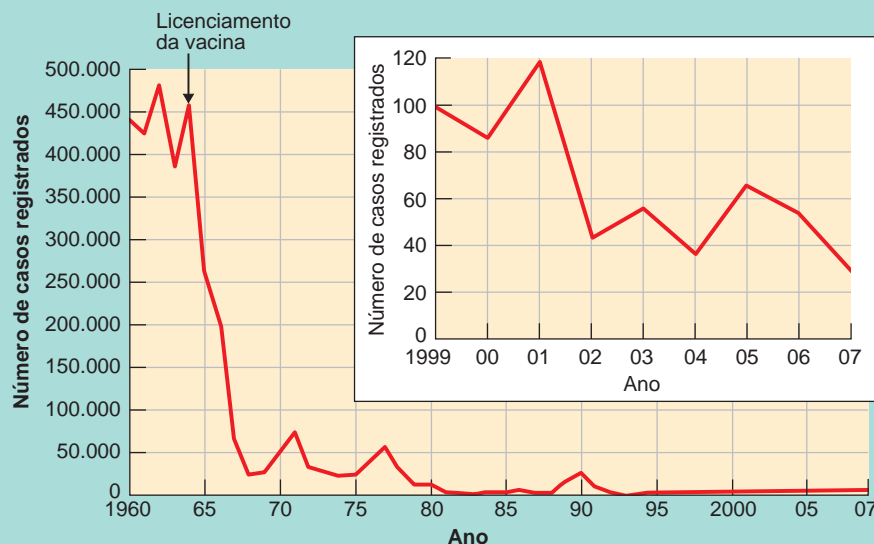



Figura B Número de casos registrados de sarampo nos Estados Unidos, 1960-2007. (CDC, 2008.)

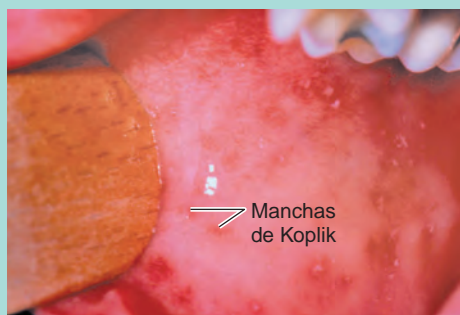



Figura A Manchas de Koplik nas bochechas.

Figura C Países com a maior taxa de mortalidade por sarampo.

As plantas também são uma fonte em potencial para as vacinas. Já existem ensaios clínicos em seres humanos usando batatas que foram manipuladas geneticamente para a produção de proteínas antigênicas de certas bactérias e vírus patogênicos. É mais provável, entretanto, que as plantas com esse propósito não sejam usadas diretamente como alimento, mas como um sistema de produção para doses de proteínas antigênicas administradas oralmente como comprimidos. As vacinas orais seriam bem recebidas por muitas razões, até mesmo por eliminarem a necessidade de injeções. Elas seriam eficazes principalmente em proteger contra as doenças causadas por patógenos que invadem o organismo através das membranas mucosas. É claro que isso inclui doenças principalmente intestinais, como a cólera. Contudo, os patógenos que causam a Aids, a influenza e algumas outras doenças não intestinais inicialmente invadem o corpo através das membranas mucosas em outros locais, como o nariz, a genitália e os pulmões. O tabaco é o principal candidato para essa finalidade, pois é improvável que essa planta contamine a cadeia alimentar.

A chamada idade do ouro da imunologia ocorreu de 1870 a 1910, quando grande parte dos elementos básicos da imunologia foi descoberta e várias vacinas importantes foram desenvolvidas. Em breve, uma nova idade de ouro pode estar se iniciando, na qual novas tecnologias serão utilizadas contra doenças infecciosas emergentes e problemas originados da redução da eficácia dos antibióticos. É notável que ainda não existam vacinas para os seres humanos contra as clamídias, os fungos, os protozoários ou os helmintos. Além disso, as vacinas para algumas doenças, como a cólera e a tuberculose, não são seguramente protetoras. Atualmente, as vacinas de pelo menos 75 doenças estão em desenvolvimento, que vão de doenças letais proeminentes, como a Aids e a malária, a distúrbios comuns como as dores de ouvido. Portanto, provavelmente descobriremos que as vacinas fáceis já foram produzidas.

As doenças infecciosas não são o único alvo possível das vacinas. Os pesquisadores estão investigando o potencial das vacinas para o tratamento e a prevenção do vício à cocaína, da doença de Alzheimer, do câncer e para a contracepção.

Trabalhos estão sendo conduzidos para melhorar a eficácia dos antígenos. Por exemplo, os produtos adicionados para esse propósito, chamados de **adjuvantes** (do latim *adjuvare*, que significa ajudar), aumentam bastante a eficácia de muitos antígenos. O alume é o adjuvante com o maior uso da história. Ele causa reações inflamatórias locais que aparentemente aumentam a eficácia da vacina. Outros adjuvantes foram registrados recentemente para uso em seres humanos, incluindo uma substância à base de óleo, o MF59, e os virossomos. Esses adjuvantes não são inflamatórios em suas atividades, mas mimetizam certos componentes bacterianos e facilitam o transporte para os linfonodos e a captura pelas células apresentadoras de antígeno.

Atualmente, cerca de 20 injeções distintas são recomendadas para crianças, algumas vezes necessitando de três ou mais em uma consulta. O desenvolvimento adicional de múltiplas combinações de vacinas seria útil. O órgão norte-americano que controla a aprovação e o uso de drogas e medicamentos (U.S. Food and Drug Administration, FDA) aprovou recentemente uma combinação para cinco doenças infantis. O modo de administração diferente da injeção com agulha também seria um avanço desejado. Muitos já receberam uma injeção de uma de alta pressão, comumente utilizada para inoculação em massa, e há disponível um spray intranasal para influenza. A maior parte das vacinas induz principalmente a imunidade humoral ou com base em anticorpos. As vacinas eficazes contra doenças como a infecção pelo HIV, a tuberculose e a malária também necessitarão de uma indução eficaz da imunidade celular. Esses requerimentos não são necessariamente exclusivos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que tipo de vacina foi desenvolvida por Louis Pasteur: completa, recombinante ou de DNA? **18-5**

✓ Qual é a origem da palavra *adjuvante*? **18-6**

Segurança das vacinas

Vimos como a variolação, a primeira tentativa de oferecer imunidade contra a varíola, algumas vezes causava a doença, ao passo que a intenção era preveni-la. Naquele momento, entretanto, considerava-se que valia a pena correr o risco. Como você verá mais adiante neste livro, a vacina oral contra a pólio, em algumas raras ocasiões, pode *causar* a doença. Em 1999, uma vacina para prevenir a diarreia infantil causada por rotavírus foi retirada do mercado porque vários recipientes vacinados desenvolveram uma obstrução intestinal com risco de morte. Entretanto, a opinião pública sobre tais riscos tem mudado; a maioria dos pais nunca viu um caso de pólio ou de sarampo e, portanto, tende a ver o risco dessas doenças como uma abstração remota. Além disso, relatos ou rumores dos efeitos nocivos geralmente levam as pessoas a evitar certas vacinas para elas e para seus filhos. Em particular, uma possível conexão entre a vacina MMR e o autismo recebeu ampla publicidade. O autismo é um distúrbio do desenvolvimento pouco compreendido que faz a criança se afastar da realidade. Uma vez que o autismo geralmente é diagnosticado na idade de 18 a 30 meses, justamente na época quando os programas de imunização infantil estão quase concluídos, algumas pessoas tentaram estabelecer uma conexão de causa e efeito. Na comunidade médica, entretanto, muitos especialistas concordam que o autismo é um distúrbio que apresenta um componente genético principal e que se inicia antes do nascimento. Pesquisas científicas consideráveis mostram que não há evidências que suportem uma conexão entre as vacinas infantis comuns e o autismo ou qualquer outra enfermidade. Alguns especialistas até mesmo recomendam a reintrodução da vacina de rotavírus, que foi proibida nos Estados Unidos, sustentando que seria bastante justificado o benefício *versus* o risco em muitos países subdesenvolvidos. Nenhuma vacina será perfeitamente segura ou eficaz – nem os antibióticos ou a maioria das outras drogas, neste sentido. Entretanto, as vacinas ainda são o modo mais seguro e eficaz para prevenir as doenças infecciosas em crianças.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é o nome da vacina oral utilizada atualmente e que ocasionalmente causa a doença que deveria ser prevenida? **18-7**

Imunodiagnóstico

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

18-8 Diferenciar sensibilidade e especificidade em um teste diagnóstico.
18-9 Definir *anticorpos monoclonais* e identificar suas vantagens sobre a produção convencional de anticorpos.
18-10 Explicar como funcionam as reações de precipitação e os testes de imunodifusão.
18-11 Diferenciar testes de aglutinação direta e indireta.
18-12 Diferenciar aglutinação e testes de precipitação.
18-13 Definir *hemaglutinação*.
18-14 Explicar como funciona um teste de neutralização.
18-15 Diferenciar precipitação e testes de neutralização.
18-16 Explicar a base para o teste de fixação do complemento.
18-17 Comparar e contrastar os testes de anticorpos fluorescentes direto e indireto.
18-18 Explicar como funcionam os testes de ELISA direto e indireto.
18-19 Explicar como funciona o *Western blotting*.
18-20 Explicar a importância dos anticorpos monoclonais.

Ao longo da história, o diagnóstico de uma doença era feito essencialmente pela observação dos sinais e sintomas do paciente. Os registros de médicos da época medieval e da antiguidade contêm descrições de muitas doenças que são reconhecíveis nos dias atuais. Elementos essenciais dos testes diagnósticos são a sensibilidade e a especificidade. **Sensibilidade** é a probabilidade de que o teste será reativo se a amostra for verdadeiro-positiva. **Especificidade** é a probabilidade de que um teste positivo *não* será reativo se a amostra for verdadeiro-negativa.

Testes diagnósticos com base imunológica

O conhecimento sobre a alta especificidade do sistema imune logo sugeriu que essa especificidade poderia ser usada no diagnóstico de doenças. Na realidade, uma observação acidental resultou em um dos primeiros testes diagnósticos para uma doença infecciosa. Há mais de 100 anos, Robert Koch tentava desenvolver uma vacina contra a tuberculose. Ele observou que, quando cobaias com a doença eram injetadas com uma suspensão de *Mycobacterium tuberculosis*, o local da injeção ficava vermelho e ligeiramente inchado um ou dois dias depois. Esse sintoma é reconhecido como um resultado positivo para o teste de tuberculina amplamente utilizado hoje em dia (veja a Figura 24.10, página 684) – muitas faculdades e universidades exigem o teste como requisito para o processo de admissão. Koch, obviamente, não tinha ideia do mecanismo de imunidade celular que resultava nesse fenômeno, nem sabia da existência dos anticorpos.

Desde a época de Robert Koch, a imunologia tem nos fornecido muitas outras ferramentas diagnósticas valiosas, muitas das quais são baseadas nas interações dos anticorpos humorais com os antígenos. Um anticorpo conhecido pode ser usado para identificar um patógeno *desconhecido* (antígeno) por sua reação com ele. Essa reação pode ser revertida, e o patógeno *conhecido* pode ser usado, por exemplo, para determinar a presença de um anticorpo desconhecido no sangue – o que determinaria se a pessoa apresenta imunidade ao patógeno. Um problema que deve ser superado nos testes diagnósticos realizados com base em anticorpos é que os anticorpos não podem ser vistos diretamente. Mesmo com ampliações bem acima de 100.000×, eles aparecem apenas como partículas indistinguíveis e indefinidas (veja a Figura 17.3c, página 480). Portanto, a presença desses anticorpos deve ser estabelecida indiretamente. Descreveremos várias soluções engenhosas para esse problema.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que propriedade do sistema imune proporcionou seu uso como um auxílio para diagnosticar uma doença: especificidade ou sensibilidade? **18-8**

Anticorpos monoclonais

Ao ser determinado que os anticorpos são produzidos por células especializadas (células B), entendeu-se que essas células são uma fonte em potencial para um único tipo de anticorpo. Se uma célula B que produz um único tipo de anticorpo pudesse ser isolada e cultivada, ela seria capaz de produzir o anticorpo desejado em quantidades quase ilimitadas e sem contaminação com outros anticorpos. Infelizmente, uma célula B se reproduz apenas poucas vezes sob condições normais de cultivo celular. Esse problema foi em grande parte resolvido com a descoberta de um método para isolar e cultivar indefinidamente células B capazes de produzir um único tipo de anticorpo. Neils Jerne, Georges Köehler e César Milstein fizeram essa descoberta em 1975, tendo recebido o prêmio Nobel por ela.

Os cientistas perceberam há muito tempo que as células B produtoras de anticorpos tornam-se cancerosas. Nesse caso, a proliferação não é controlada, e elas são então denominadas *mielomas*. Essas células B cancerosas podem ser isoladas e propagadas indefinidamente em cultivo celular. As células cancerosas, nesse caso, são "imortais". O avanço veio da combinação de uma célula B cancerosa "imortal" com uma célula B normal produtora de anticorpos. Quando unidas por fusão, essa combinação é designada **hibridoma**.

Quando um hibridoma cresce em cultura, suas células geneticamente idênticas continuam a produzir o tipo de anticorpo característico da célula B ancestral. A importância dessa técnica é que os clones das células secretoras de anticorpo podem ser mantidos indefinidamente em cultivo celular, podendo produzir grandes quantidades de moléculas idênticas de anticorpo. Uma vez que todas essas moléculas de anticorpo são produzidas por um clone de hibridoma único, elas são chamadas de **anticorpos monoclonais**, ou **Mabs**, de *monoclonal antibodies* (**Figura 18.2**).

Os anticorpos monoclonais são úteis por três razões: são uniformes, são altamente específicos e podem ser prontamente produzidos em grandes quantidades. Devido a essas qualidades, os Mabs assumiram uma enorme importância como ferramentas diagnósticas. Por exemplo, kits comerciais usam os Mabs para reconhecer vários patógenos bacterianos. Testes sem prescrição para gravidez usam Mabs para indicar a presença de um hormônio excretado somente na urina de uma mulher grávida (veja a Figura 18.13, página 517).

Figura 18.2

FIGURA FUNDAMENTAL A produção de anticorpos monoclonais

A observação de como os anticorpos monoclonais são produzidos, um importante avanço na medicina, é útil para entender as funções e as aplicações de várias ferramentas diagnósticas e terapêuticas comuns que serão discutidas neste e nos capítulos subsequentes.

1 Um camundongo é injetado com um antígeno específico, que induzirá anticorpos contra o antígeno.

2 O baço do camundongo é removido e homogeneizado em uma suspensão celular. A suspensão contém células B que produzem anticorpos contra o antígeno injetado.

3 As células do baço são então misturadas com células de mieloma que são capazes de crescimento contínuo em cultura, mas perderam a habilidade de produzir anticorpos. Algumas das células do baço produtoras de anticorpo e as células de mieloma se fundem para formar células híbridas. Essas células híbridas são agora capazes de crescer continuamente em cultura enquanto produzem anticorpos.

4 A mistura de células é colocada em um meio seletivo que permite o crescimento apenas das células híbridas.

5 As células híbridas se proliferam em clones chamados de hibridomas. Os hibridomas são selecionados após triagem para a produção do anticorpo desejado.

6 Os hibridomas selecionados são então cultivados para produzir grandes quantidades de anticorpos monoclonais.

Conceito-chave

A fusão de células de mieloma cultivadas (células B cancerosas) com células do baço produtoras de anticorpos forma um hibridoma. Hibridomas podem ser cultivados para produzir grandes quantidades de anticorpos idênticos, chamados de anticorpos monoclonais.

Anticorpos monoclonais também estão sendo usados terapeuticamente para superar os efeitos indesejáveis do sistema imune. Por exemplo, *muromonab-CD3* tem sido usado desde 1986 para diminuir a rejeição de transplantes de rim. Para essa finalidade, os anticorpos monoclonais são preparados para reagir com as células T responsáveis pela rejeição do tecido transplantado, inibindo a atividade da célula T.

O uso de Mabs está revolucionando o tratamento de muitas doenças. A FDA aprovou vários Mabs para o tratamento de doenças específicas. A inflamação na artrite reumatoide e o distúrbio inflamatório intestinal da doença de Crohn podem ser tratados com *infliximab* (*Remicade*) ou *entanercept* (*Enbrel*), direcionados para bloquear a ação causadora da inflamação, o fator de necrose tumoral (veja a página 492). Um câncer do sistema linfático, o linfoma não Hodgkin, pode ser tratado com uma combinação de Mabs, o *ibritumonab* (*Zevalin*) e o *rituximab* (*Rituxan*). Eles são dirigidos para destruir células cancerosas, mas são usados somente quando outros tratamentos não foram bem-sucedidos. O câncer de mama pode ser tratado com algum sucesso com o *trastuzumab* (*Herceptin*). Esse Mab liga-se a um sítio específico chamado de receptor HER-2, que ocorre em aproximadamente 30% das mulheres; isso limita o espalhamento do câncer.

O uso terapêutico de Mabs era limitado, pois antigamente esses anticorpos eram produzidos apenas por células de camundongo (murinas). O sistema imune dos pacientes reagia contra as proteínas estranhas do camundongo, o que levava ao aparecimento de exantema, inchaço e até mesmo eventual falha dos rins, além da destruição dos Mabs. Por exemplo, o sucesso do uso do *muromonab-CD3* para diminuir a rejeição de tecidos foi muito limitado devido aos efeitos colaterais relacionados à administração da fração estranha (murina) do anticorpo monoclonal.

Reconhecendo esses problemas, os pesquisadores estão desenvolvendo novas gerações de Mabs que sejam menos prováveis de causar efeitos colaterais devido a sua "estranheza". Basicamente, quanto mais humano for o anticorpo, mais bem-sucedido ele deve ser. Os pesquisadores têm explorado várias abordagens.

Anticorpos monoclonais quiméricos usam camundongos geneticamente modificados para produzir uma molécula híbrida humano-camundongo. A parte variável da molécula de anticorpo, inclusive os sítios de ligação ao antígeno (veja a Figura 17.3a), é murina. A parte restante da molécula de anticorpo, a região constante, é derivada de uma fonte humana. Esses anticorpos Mabs são aproximadamente 66% humanos. Um exemplo é o rituximab.

Anticorpos humanizados são desenvolvidos para que a porção murina esteja limitada aos sítios de ligação ao antígeno. O equilíbrio da região variável e de toda a região constante derivado de fontes humanas. Esses Mabs são aproximadamente 90% humanos. Exemplos são o alemtuzumab e o trastuzumab.

O objetivo final é desenvolver **anticorpos humanos completos**. Uma abordagem é modificar geneticamente camundongos para que contenham genes humanos. Esses camundongos produziriam anticorpos que seriam completamente humanos; em alguns casos, poderia ser possível até mesmo produzir um anticorpo que fosse uma combinação exata para o paciente.

Também é possível que as terapias com Mabs possam ser tão bem-sucedidas que seria difícil produzi-los em volumes suficientes. Várias soluções em potencial para esse problema estão sendo investigadas. Por exemplo, o uso de camundongos poderia ser completamente evitado pelo uso de bacteriófagos, para inserir os genes desejados na bactéria, que então seriam capazes de produzir os Mabs desejados em escala industrial. Outra abordagem para o problema seria modificar geneticamente animais para que secretem os Mabs em seu leite. As alterações genéticas das plantas para produzir Mabs é outro caminho possível para a produção em larga escala.

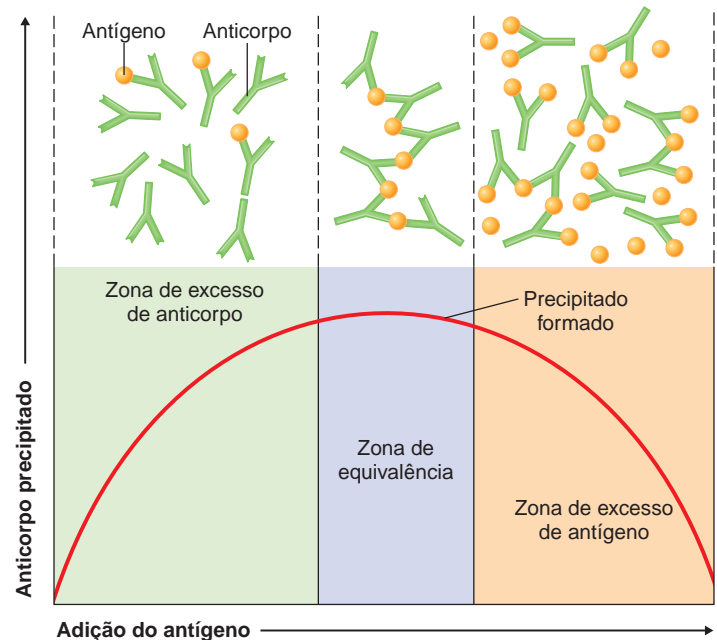



Figura 18.3 Uma curva de precipitação. A curva é baseada na proporção entre antígeno e anticorpo (razão). A quantidade máxima de precipitado se forma na zona de equivalência, onde a proporção é aproximadamente equivalente.

P **Como a precipitação difere da aglutinação?**

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O sangue de uma vaca infectada poderia ter uma quantidade considerável de anticorpos contra um patógeno infeccioso. De que modo uma quantidade equivalente de anticorpos monoclonais seria mais útil? **18-9**

Reações de precipitação

As **reações de precipitação** envolvem a reação de antígenos solúveis com anticorpos IgG ou IgM para formar grandes agregados moleculares entrelaçados chamados de *treliças*.

As reações de precipitação ocorrem em dois estágios distintos. Primeiro, os antígenos e os anticorpos rapidamente formam pequenos complexos antígeno-anticorpo. Essa interação ocorre dentro de alguns segundos e é seguida por uma reação mais lenta, que pode levar de minutos a horas, na qual os complexos antígeno-anticorpo formam treliças que se precipitam na solução. As reações de precipitação geralmente ocorrem quando a proporção do antígeno em relação ao anticorpo (razão) é ótima. A **Figura 18.3** mostra que nenhum precipitado visível se forma quando um componente ou outro se encontra em excesso. A razão ótima é obtida quando as soluções separadas do antígeno e do anticorpo são colocadas lado a lado e deixadas difundir. Em um **teste do anel de precipitina** (**Figura 18.4**), aparece uma linha turva de precipitação (anel) na área em que a proporção máxima foi obtida (a *zona de equivalência*).

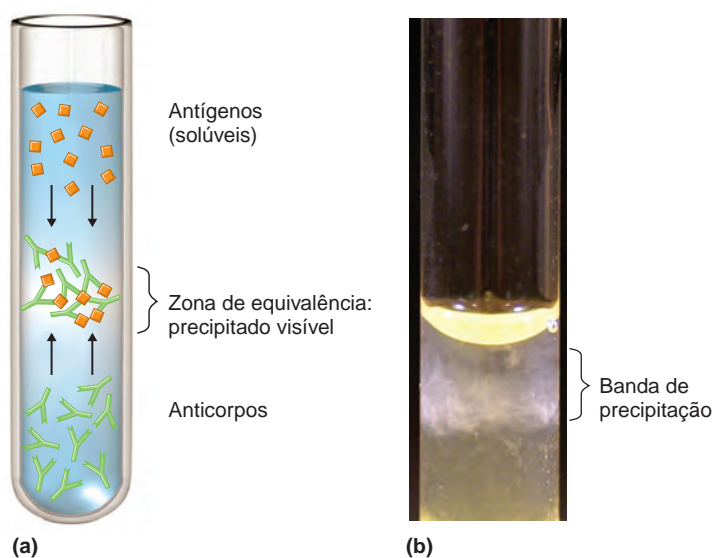



Figura 18.4 Teste do anel de precipitina. (**a**) O esquema mostra a difusão dos antígenos e dos anticorpos, um em direção ao outro, em um pequeno tubo de ensaio. Quando eles atingem proporções equivalentes, na zona de equivalência, forma-se uma linha visível ou um anel de precipitado. (**b**) Fotografia de uma banda de precipitina.

P O que causa a formação da linha visível?

Figura 18.5 Uma reação de aglutinação. Quando os anticorpos reagem com os epítopos nos antígenos mantidos nas células vizinhas, como essas bactérias (ou hemácias), os antígenos particulados (células) se aglutinam. A IgM, a imunoglobulina mais eficiente para aglutinação, é mostrada aqui, porém a IgG também participa nas reações de aglutinação.

P Esquematize uma reação de aglutinação envolvendo a IgG.

Os **testes de imunodifusão** são reações de precipitação realizadas em um gel de meio ágar, em uma placa de Petri ou lâmina de microscópio. Uma linha visível do precipitado se forma entre os poços no estágio em que a razão ótima entre antígeno e anticorpo é atingida.

Outros testes usam a eletroforese para acelerar os movimentos de antígenos e anticorpos em um gel, algumas vezes fornecendo resultados em menos de uma hora. As técnicas de imunodifusão e eletroforese podem ser combinadas em um procedimento denominado **imunoeletroforese**. O método é usado em pesquisas para separar proteínas do soro humano, sendo a base de alguns testes diagnósticos. Ele é parte essencial de um dos testes usados para diagnosticar a Aids (veja a Figura 10.12, páginas 289 e 516).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que um teste com base na reação de precipitação se torna visível apenas em um espectro estreito? **18-10**

Reações de aglutinação

Enquanto as reações de precipitação envolvem antígenos *solúveis*, as reações de aglutinação envolvem antígenos *particulados* (como células que carreiam moléculas antigênicas) ou antígenos solúveis aderidos a partículas. Esses antígenos podem se ligar através de anticorpos formando agregados visíveis, uma reação denominada **aglutinação** (**Figura 18.5**). As reações de aglutinação são bastante sensíveis, relativamente fáceis de visualizar (veja a Figura 10.10, página 287) e disponíveis em grande variedade. Os testes de aglutinação podem ser classificados como diretos e indiretos.

Testes de aglutinação direta

Os **testes de aglutinação direta** detectam anticorpos contra quantidades relativamente grandes de antígenos celulares, como hemácias, bactérias e fungos. Antigamente, esses testes eram feitos em uma série de tubos de ensaio, mas hoje em geral são realizados em *placas de microtitulação* feitas de plástico, que apresentam vários poços rasos que substituem os tubos de ensaios individuais. A quantidade de antígeno particulado em cada poço é a mesma, porém a quantidade de soro contendo anticorpos é diluída, de modo que cada poço seguinte tenha a metade dos anticorpos do poço anterior. Esses testes são usados, por exemplo, para diagnosticar brucelose e para classificar isolados de *Salmonella* em sorovares, tipos definidos por métodos sorológicos.

É claro que, quanto mais anticorpo se utiliza no início, mais diluições serão necessárias para reduzir sua quantidade ao ponto em que não haja mais anticorpos suficientes para o antígeno reagir. Essa é a medida do **título** ou a concentração de anticorpo no soro (**Figura 18.6**). Nas doenças infecciosas em geral, quanto maior o título do anticorpo no soro, maior a imunidade contra a doença. Entretanto, o título sozinho é de uso limitado no diagnóstico de uma doença. Não há como saber se os anticorpos titulados foram gerados em resposta a uma infecção recente ou a uma doença que já existia. Para fins de diagnóstico, um *aumento no título* é significativo; isto é, o título é mais alto no curso da doença do que no seu começo. Além disso, pode ser demonstrado que o sangue da pessoa não apresentava título de anticorpo antes da doença, porém passa a um título significativo à medida que ela progride, o que é chamado de **soroconversão**, também um diagnóstico. Essa situação é encontrada com frequência nas infecções pelo HIV.

(a) Cada poço desta placa de microtitulação contém, da esquerda para a direita, apenas metade da concentração do soro que está presente no poço anterior. Cada poço contém a mesma concentração dos antígenos particulados, nesse caso, as hemácias.

(b) Em uma reação positiva (aglutinada), anticorpos em número suficiente estão presentes no soro para unir os antígenos, formando uma esteira de complexos antígeno-anticorpo no fundo do poço.

(c) Em uma reação negativa (não aglutinada), não há anticorpos em número suficiente para causar a união dos antígenos. Os antígenos particulados deslizam pelos declives laterais do poço, formando um sedimento no fundo. Nesse exemplo, o título de anticorpo é 160 porque 1:160 é a concentração mais diluída capaz de produzir uma reação positiva.

Figura 18.6 **Determinação de título de anticorpo com o teste de aglutinação direta.**

P **O que significa o termo *título de anticorpo*?**

Alguns testes diagnósticos identificam especificamente anticorpos IgM. Como discutido no Capítulo 17, a IgM de vida curta provavelmente indica uma resposta a uma doença mais recente.

Testes de aglutinação indireta (passiva)

Os anticorpos contra antígenos solúveis podem ser detectados por testes de aglutinação se os antígenos estiverem adsorvidos em partículas como bentonita ou, mais frequentemente, esferas de látex minúsculas, cada uma com um diâmetro de cerca de um décimo de uma bactéria. Esses testes, conhecidos como *testes de aglutinação em látex*, geralmente são utilizados para a detecção rápida de anticorpos no soro contra várias doenças virais e bacterianas. Nos **testes de aglutinação indireta (passiva)**, o anticorpo reage com o antígeno solúvel aderido às partículas (**Figura 18.7**). As partículas então se aglutinam, mais intensamente que na aglutinação direta. O mesmo princípio pode ser aplicado de modo inverso usando partículas recobertas com anticorpos para detectar antígenos contra os quais são específicos. Essa aborda-

Figura 18.7 **Reações nos testes de aglutinação indireta.** Esses testes são realizados com antígenos ou anticorpos recobrindo partículas como esferas de látex minúsculas.

P **Diferencie testes de aglutinação direta e indireta.**

(a) Reação em um teste indireto positivo para anticorpos. Quando partículas (aqui esferas de látex) são recobertas com antígenos, a aglutinação indica a presença dos anticorpos, como a IgM mostrada aqui.

(b) Reação em um teste indireto positivo para antígenos. Quando partículas são recobertas com anticorpos monoclonais, a aglutinação indica a presença dos antígenos.

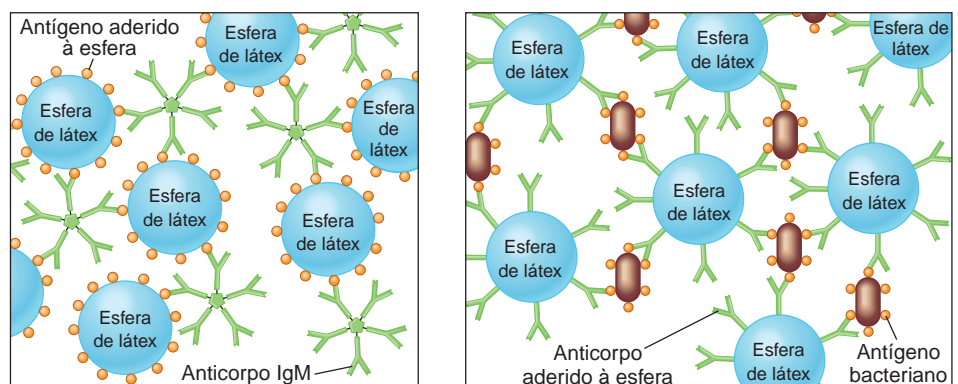
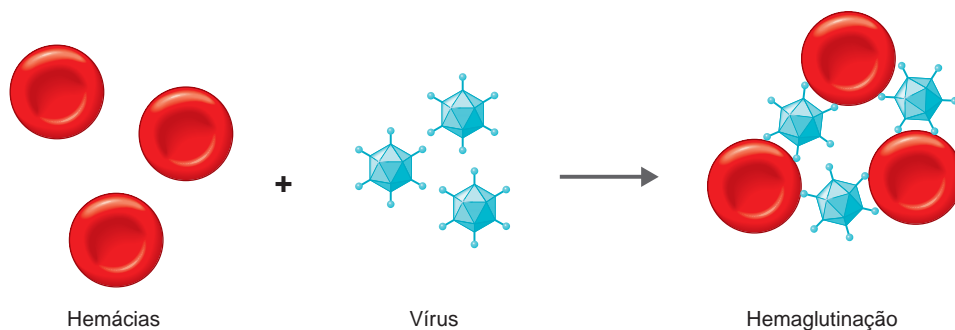



Figura 18.8 Hemaglutinação viral. A hemaglutinação viral não é uma reação antígeno--anticorpo.

P O que causa a aglutinação na hemaglutinação viral?

gem é comum, principalmente em testes para detectar osestreptococos que causam infecções de garganta. O diagnóstico pode ser obtido em cerca de 10 minutos.

Hemaglutinação

Quando as reações de aglutinação envolvem a agregação de hemácias, são chamadas de **hemaglutinação**. Essas reações, que envolvem antígenos de superfície de hemácias e seus anticorpos complementares, são usadas rotineiramente na tipagem sanguínea (veja a Tabela 19.2, página 527) e no diagnóstico da mononucleose infecciosa.

Determinados vírus, como os que causam a caxumba, o sarampo e a influenza, têm a habilidade de aglutinar hemácias sem envolver uma reação antígeno-anticorpo; esse processo é chamado de **hemaglutinação viral** (**Figura 18.8**). Esse tipo de hemaglutinação pode ser inibido por anticorpos que neutralizam o vírus aglutinante. Testes diagnósticos com base nessas reações de neutralização são discutidos na próxima seção.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que um teste de aglutinação direta não funcionaria muito bem com os vírus? **18-11**
- ✓ Que teste detecta antígenos solúveis: aglutinação ou precipitação? **18-12**
- ✓ Certos testes diagnósticos requerem hemácias com agregação visível. Como estes são chamados? **18-13**

Reações de neutralização

A **neutralização** é uma reação antígeno-anticorpo na qual os efeitos nocivos de uma endotoxina bacteriana ou um vírus são bloqueados por anticorpos específicos. Essas reações foram descritas pela primeira vez em 1890, quando os pesquisadores observaram que o soro imunológico poderia neutralizar as substâncias tóxicas produzidas pelo patógeno da difteria, o *Corynebacterium diphtheriae*. Essa substância neutralizante, chamada de antitoxina, é um anticorpo específico produzido por um hospedeiro como resposta à endotoxina bacteriana ou ao seu toxoide correspondente (toxina inativa). A antitoxina se combina com a endotoxina para neutralizá-la (**Figura 18.9a**). As antitoxinas produzidas em animais podem ser injetadas em seres humanos para proporcionar imunidade passiva contra a toxina. As antitoxinas produzidas em cavalos são rotineiramente utilizadas para prevenir ou é tratar a difteria e o botulismo; a antitoxina tetânica geralmente é de origem humana.

Os usos terapêuticos das reações de neutralização levaram à sua aplicação como testes diagnósticos. Os vírus que exibem seus efeitos citopáticos (dano à célula) em cultivo celular ou em ovos embrionados podem ser usados para detectar a presença de anticorpos virais neutralizantes (veja a página 441). Se o soro a ser testado contiver anticorpos contra um vírus em particular, os anticorpos impedirão que o vírus infecte as células do cultivo celular ou os ovos, e nenhum efeito citopático será observado. Tais testes, conhecidos como testes de neutralização *in vitro*, podem ser utilizados para identificar um vírus e também para determinar o título de anticorpo viral. Os testes de neutralização *in vitro* são complexos em sua realização e estão se tornando menos comuns nos laboratórios clínicos modernos.

Um teste de neutralização utilizado com mais frequência na tipagem sorológica de vírus é o **teste de inibição da hemaglutinação viral**. Determinados vírus, como os que causam a influenza, a caxumba e o sarampo, contêm proteínas de superfície que causam a aglutinação das hemácias. Esse teste é muito usado na subtipagem dos vírus da influenza, embora os laboratórios estejam mais familiarizados com os testes de ELISA para essa finalidade. Se o soro de uma pessoa apresenta anticorpos contra esses vírus, os anticorpos reagirão com os vírus, neutralizando-os (**Figura 18.9b**). Por exemplo, se a hemaglutinação ocorrer em uma mistura de vírus do sarampo e hemácias, mas não ocorrer quando o soro do paciente for adicionado à mistura, o resultado sugere que o soro contém anticorpos que se ligaram ao vírus do sarampo, neutralizando-o.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Em que sentido há uma conexão entre a hemaglutinação e alguns vírus? **18-14**
- ✓ Qual desses testes é uma reação antígeno-anticorpo: precipitação ou inibição da hemaglutinação viral? **18-15**

Reações de fixação do complemento

No capítulo 16 (páginas 463 a 468), apresentamos um grupo de proteínas do soro chamadas coletivamente de complemento. Na maior parte das reações antígeno-anticorpo, o complemento se liga ao complexo antígeno-anticorpo e é consumido, ou fixado. Esse processo de **fixação do complemento** pode ser usado para detectar quantidades muito pequenas de anticorpo. Os anticorpos que não produzem uma reação visível na precipitação ou aglutinação podem ser evidenciados pela fixação do complemento durante as reações antígeno-anticorpo. A fixação do complemento era utilizada antigamente para o diagnóstico da sífilis (teste de Wassermann)

(a) Os efeitos de uma toxina sobre uma célula suscetível e a neutralização da toxina pela antitoxina.

(b) Teste de hemaglutinação viral para detectar anticorpos para um vírus. Esses vírus normalmente causarão a hemaglutinação quando misturados com as hemácias. Se os anticorpos para o vírus estiverem presentes, como mostrado aqui, eles neutralizarão e inibirão a hemaglutinação.

Figura 18.9 Reações nos testes de neutralização.

P Por que a hemaglutinação indica que o paciente não tem uma determinada doença?

e ainda é utilizada para diagnosticar certas doenças virais, fúngicas e causadas por riquétsias. As reações de fixação do complemento requerem cuidado máximo e bons controles, motivo pelo qual se justificam as tentativas de substituí-las por testes mais simples e modernos. O teste é conduzido em dois estágios: fixação do complemento e indicador (Figura 18.10).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que o complemento recebeu este nome? **18-16**

Técnicas de anticorpos fluorescentes

As **técnicas de anticorpos fluorescentes** (**FA**, de *fluorescent antibody*) podem identificar micro-organismos em amostras clínicas e também detectar a presença de um anticorpo específico no soro (Figura 18.11). Essas técnicas combinam corantes fluorescentes, como o isotiocianato de fluoresceína (FITC, de *fluorescein isothiocyanate*), com anticorpos para fazê-los fluorescer quando expostos à luz ultravioleta (veja a Figura 3.6, página 61). Esses procedimentos são rápidos, sensíveis e muito específicos; o teste FA para a raiva pode ser realizado em poucas horas e tem uma taxa de precisão próxima de 100%.

P&R Existem dois tipos de testes de anticorpos fluorescentes: direto e indireto. Os **testes FA diretos** geralmente são utilizados para identificar um micro-organismo em uma amostra clínica (Figura 18.11a). Durante esse procedimento, a amostra contendo o antígeno a ser identificado é fixada a uma lâmina. Os anticorpos marcados com fluoresceína são então adicionados, e a lâmina é incubada brevemente. Em seguida, a lâmina é lavada para remover qualquer anticorpo que não tenha se ligado ao antígeno, sendo então examinada sob o microscópio de fluorescência para detecção de fluorescência verde-amarelada. O anticorpo residual será visível mesmo se o antígeno, como um vírus, for de tamanho submicroscópico.

Os **testes FA indiretos** são utilizados para detectar a presença de um anticorpo específico no soro após a exposição a um micro-organismo (Figura 18.11b). Eles muitas vezes são mais sensíveis que os testes diretos. Nesse procedimento, um antígeno conhecido é fixado a uma lâmina. O soro a ser testado é então adicionado e, se o anticorpo específico para contra o micróbio estiver presente, ele reage com o antígeno para formar um complexo. Para que o complexo antígeno-anticorpo seja visto, adiciona-se à lâmina uma **imunoglobulina sérica anti-humana** (**anti-HISG**, de *antihuman immune serum globulin*), um anticorpo que reage especificamente com qualquer anticorpo humano, marcada com fluoresceína. A anti-HISG estará presente somente se o anticorpo específico reagir com seu antígeno e, portanto, estiver presente. Após a incubação e a lavagem da lâmina (para remover anticorpo não ligado), ela é examinada sob o microscópio de fluorescência. Se o antígeno fixado à lâmina fluorescer, o anticorpo específico para o antígeno está presente.

(a) Teste positivo. Todo o complemento disponível é fixado pela reação antígeno-anticorpo; como não ocorre hemólise, o teste é positivo para a presença de anticorpos.

(b) Teste negativo. Não ocorre reação antígeno-anticorpo. O complemento permanece livre e as hemácias são lisadas no estágio indicador, sendo, portanto, um teste negativo.

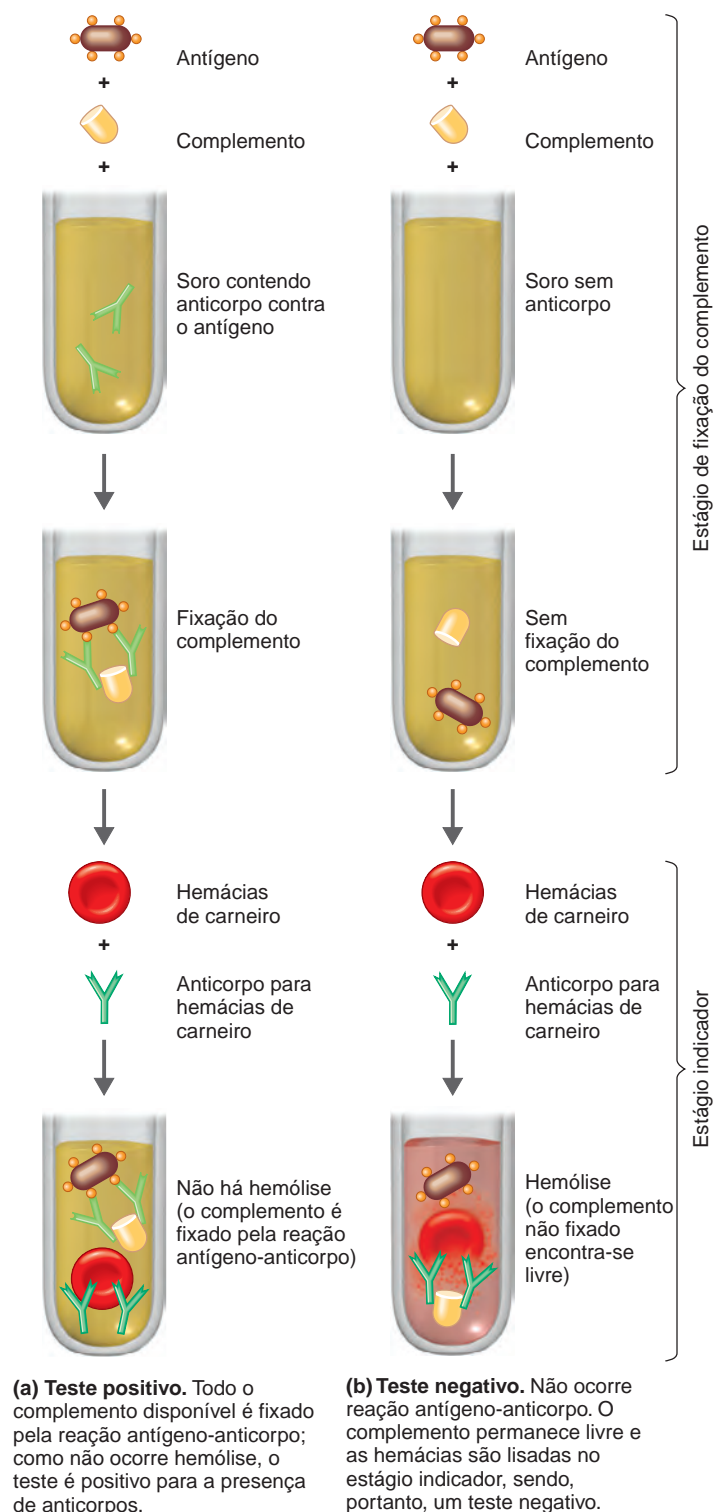



Figura 18.10 O teste de fixação do complemento. Esse teste é usado para indicar a presença de anticorpos contra um antígeno conhecido. O complemento se combinará (irá se fixar) com um anticorpo que reage com um antígeno. Se todo o complemento for fixado no estágio de fixação, então nenhum complemento restará para causar a hemólise das hemácias no estágio indicador.

P Por que a lise das hemácias indica que o paciente não apresenta uma determinada doença?

Uma adaptação especialmente interessante dos anticorpos fluorescentes é o **classificador celular ativado por fluorescência** (**FACS**, de *fluorescence-activated cell sorter*). No Capítulo 17, vimos que as células T carregam moléculas antigenicamente específicas, como CD4 e CD8, em sua superfície, que são características de determinados grupos de células T. A depleção de células T $CD4^+$ é usada para acompanhar a progressão da Aids; a população de células pode ser determinada por FACS.

O FACS é uma modificação da *citometria de fluxo*, em que a suspensão de células é liberada como gotículas contendo não mais que uma célula (veja a página 288). Um feixe de *laser* incide sobre cada gotícula contendo a célula e é então recebido por um detector que determina certas características celulares, como, por exemplo, o tamanho (**Figura 18.12**). Se as células carregarem os marcadores FA de modo que as identifiquem como células T $CD4^+$ ou $CD8^+$, o detector pode medir essa fluorescência. Como o feixe de *laser* detecta uma célula de tamanho ou fluorescência pré-selecionados, uma carga elétrica positiva ou negativa pode ser dada a ele. À medida que a gotícula encontra-se entre placas carregadas eletricamente, ela é atraída para um tubo ou outro, separando efetivamente células de diferentes tipos. Milhões de células podem ser separadas em uma hora por esse processo, todas sob condições estéreis, o que permite que possam ser utilizadas em um trabalho experimental.

Uma aplicação interessante do citômetro de fluxo é a seleção dos espermatozoides para separar os masculinos (carregando o cromossomo Y) dos femininos (carregando o cromossomo X). O espermatozoide feminino (significando que resultará em um embrião feminino quando fertilizar o óvulo) contém mais DNA; 2,8% a mais em humanos e 4% em animais. Quando corado com um corante fluorescente específico para o DNA, o espermatozoide feminino brilha mais intensamente ao ser atingido pelo feixe de *laser*, pois tem mais DNA e, portanto, pode ser separado. A técnica foi desenvolvida para a agricultura, porém recebeu aprovação médica para utilização em casais que carregam genes para doenças hereditárias que afetam apenas meninos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que teste é usado para detectar anticorpos contra um patógeno: o teste de anticorpo fluorescente direto ou o indireto? **18-17**

Ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA)

O **ensaio imunossorvente ligado à enzima** (**ELISA**, de *enzyme-linked immnosorbent assay*) é o mais amplamente utilizado em um conjunto de testes conhecido como *imunoensaio enzimático* (EIA, de *enzyme immunoassay*). Existem dois métodos básicos. O *ELISA direto* detecta antígenos, e o *ELISA indireto* detecta anticorpos. Uma placa de microtitulação com vários poços rasos é usada em ambos os procedimentos (veja a Figura 10.11a, página 288). Existem variações do teste; por exemplo, em vez de serem ligados às superfícies das placas de microtitulação, os reagentes podem ser ligados a minúsculas partículas de látex. Os testes ELISA são populares principalmente por serem de fácil visualização; os resultados tendem a ser distintamente positivos ou negativos.

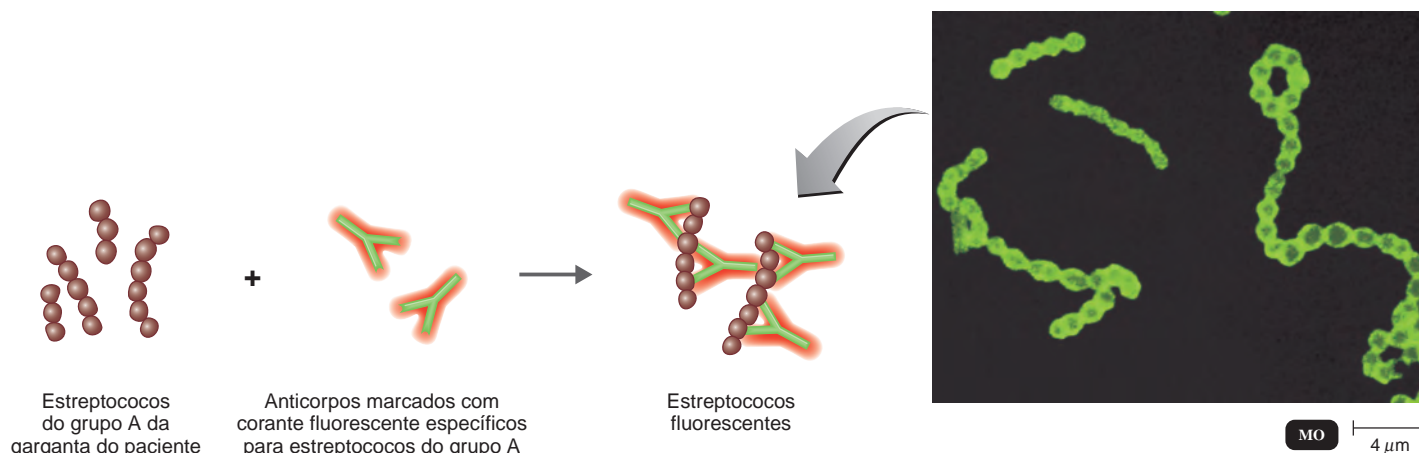
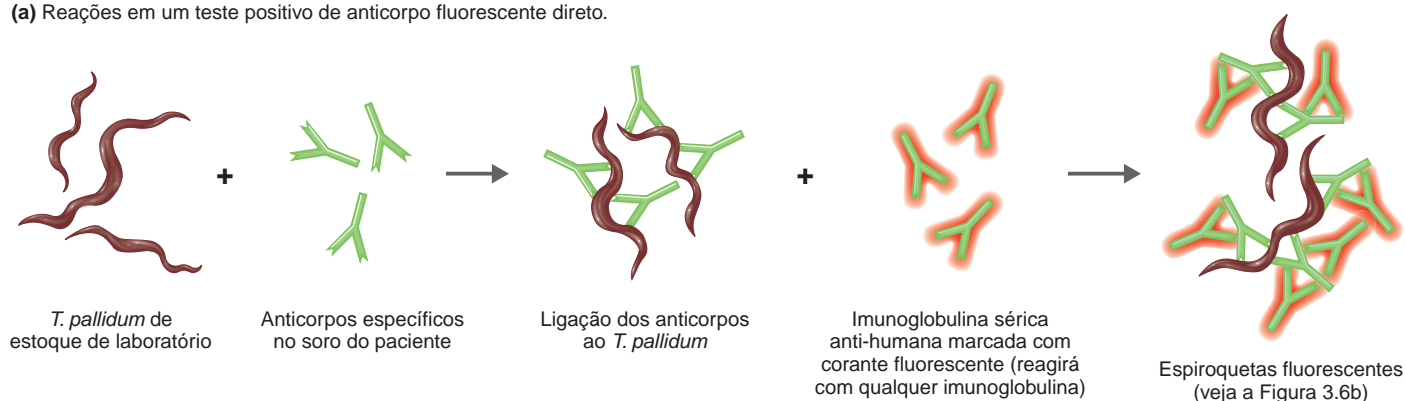



Figura 18.11 **Técnicas com anticorpo fluorescente (FA).** **(a)** Um teste FA direto para identificar estreptococos do grupo A. **(b)** Em um teste FA indireto, como o usado para o diagnóstico da sífilis, o corante fluorescente é fixado à imunoglobulina sérica anti-humana, que reage com qualquer imunoglobulina humana (como o anticorpo específico para o *Treponema palllidum*) que já tenha reagido com o antígeno. A reação é examinada em um microscópio de fluorescência, e o antígeno para o qual o anticorpo marcado com o corante tenha reagido fluoresce (brilha) sob a iluminação da luz ultravioleta.

P Diferencie teste FA direto teste FA indireto.

Muitos testes ELISA estão disponíveis para uso clínico na forma de kits preparados comercialmente. Os procedimentos muitas vezes são altamente automatizados, com os resultados sendo lidos por um leitor e impressos por computador (veja a Figura 10.11, página 288). Alguns testes com base nesse princípio também estão disponíveis para uso do público em geral; um exemplo é o teste de gravidez geralmente disponível nas farmácias (**Figura 18.13**).*

*Um papiro egípcio datando de 1350 a.C. descreveu um teste de gravidez no qual uma mulher urinava sobre sementes de trigo e cevada por vários dias. O crescimento das sementes era uma indicação da gravidez. Em 1963, essa teoria foi testada, e em 70% das vezes a urina de uma mulher grávida de fato promovia o crescimento, enquanto a urina de mulheres não grávidas e homens não promovia. Os níveis elevados de estrogênio foram considerados a causa mais provável. (O uso das duas espécies de semente tinha a intenção de determinar o gênero: cevada, masculino; trigo, feminino.)

ELISA direto

O método de ELISA direto é mostrado na **Figura 18.14a** (página 518). Um uso comum desse teste é a detecção de drogas na urina. Para isso, os anticorpos específicos para a droga são adsorvidos ao poço na placa de microtitulação. (A disponibilidade de anticorpos comerciais tem sido fundamental para o uso difundido do teste ELISA.) Quando a amostra de urina do paciente é adicionada ao poço, qualquer componente da droga que a urina contenha vai se ligar ao anticorpo e será capturado. O poço é enxaguado para remoção de qualquer droga que não tenha se ligado. Para tornar o teste mais visível, mais anticorpos específicos são adicionados (esses anticorpos têm uma enzima associada a eles – portanto, o termo *ligado à enzima*) e reagirão com a droga prontamente capturada, formando um "sanduíche" de anticorpo/droga/anticorpo ligado à enzima. Esse teste positivo pode ser

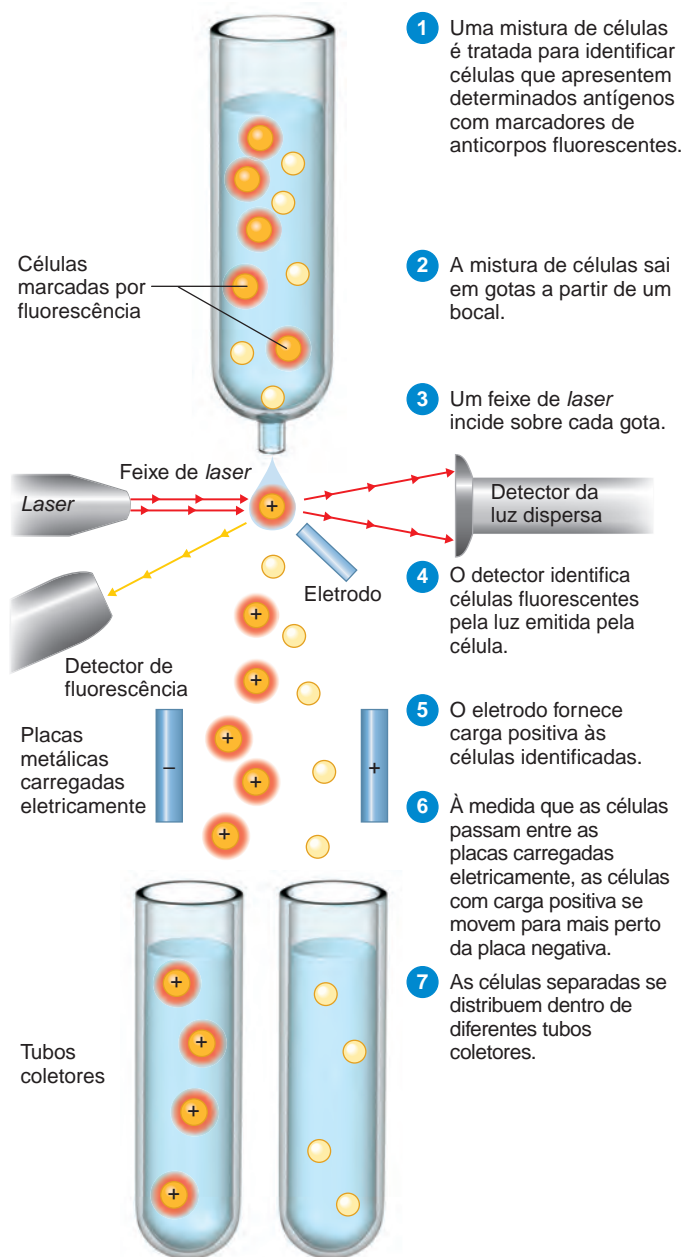



Figura 18.12 **Separador de celulas ativado por fluorescência (FACS).** Essa técnica pode ser utilizada para separar diferentes classes de células T. Um anticorpo marcado com um fluorescente reage, por exemplo, com a molécula CD4 na célula T.

P **Forneça uma aplicação do FACS para acompanhamento do progresso de infecção por HIV.**

revelado com a adição de um substrato à enzima ligada; uma cor visível é produzida pela enzima que reage com seu substrato.

ELISA indireto

O teste ELISA indireto, ilustrado na **Figura 18.14b**, detecta preferivelmente anticorpos em vez de antígenos, como uma droga, na amostra de um paciente. Esses testes são utilizados, por exemplo, para demonstrar anticorpos para HIV no sangue (veja a página 545). Para isso, o poço da placa de microtitulação contém um antígeno, como o vírus inativado que causa a doença a ser diagnosticada. Uma amostra do sangue do paciente é adicionada ao poço; se o poço contiver anticorpos contra o vírus, os anticorpos irão reagir com o vírus. O poço é enxaguado para a remoção de anticorpos não ligados. Se os anticorpos no sangue e o vírus no poço se unirem, permanecerão no poço – um teste positivo. Para que um teste positivo seja visível, um pouco de anti-HISG (uma imunoglobulina que se fixará a *qualquer* anticorpo, incluindo o do soro do paciente que se fixou ao vírus no poço; veja a página 513) é adicionado. O anti-HISG está ligado a uma enzima. Um teste positivo consiste em um "sanduíche" ou vírus/anticorpo/anti-HISG ligado a uma enzima. Neste estágio, o substrato para a enzima é adicionado, e um teste positivo é detectado pela mudança de cor causada pela enzima ligada ao anti-HISG.

Western blotting (*immunoblotting*)

Western blotting, geralmente chamado de *immunoblotting*, pode ser usado para identificar uma proteína específica em uma mistura. Quando esta proteína específica é um anticorpo, a técnica é valiosa para o diagnóstico da doença. Os componentes da mistura são separados por eletroforese em gel, sendo então transferidos para uma folha que liga proteínas (*blotter*), chamada de filtro ou membrana. Lá a proteína/antígeno é inundada com um anticorpo ligado à enzima. A localização do antígeno e o anticorpo ligado à enzima reativo podem ser visualizados, geralmente com uma identificação de cor reativa semelhante ao teste de ELISA (veja a Figura 18.14). A aplicação mais frequente é em teste que confirma a infecção pelo HIV (veja a página 545). A Figura 10.12 na página 289 ilustra esse procedimento.*

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que teste é utilizado para detectar anticorpos contra um patógeno, o teste ELISA direto ou indireto? **18-16**

✓ Como os anticorpos são detectados no *Western blotting*? **18-19**

O futuro da terapêutica e do diagnóstico imunológicos

A introdução dos anticorpos monoclonais revolucionou o diagnóstico imunológico ao tornar disponível grandes quantidades de anticorpos específicos. Isso tem levado a vários testes diagnósticos modernos, que são mais sensíveis, específicos, rápidos e simples de serem usados. Por exemplo, os testes para o diagnóstico das infecções por clamídia sexualmente transmissíveis e de algumas doenças parasitárias intestinais causadas por protozoários têm se tornado comuns. Antes, esses testes requeriam métodos de cultura ou microscópicos relativamente difíceis para o diagnóstico. Ao

*A designação de *Western blotting* é um capricho científico. O procedimento de *Southern blotting* utilizado para detectar fragmentos de DNA (página 262), nomeado por seu inventor Ed Southern, levou a um procedimento semelhante para a detecção de fragmentos de mRNA, sendo nomeado *Northern blotting*. Este "sistema direcional" continuou quando um novo procedimento para a identificação de proteínas foi desenvolvido – daí, *Western blotting*.

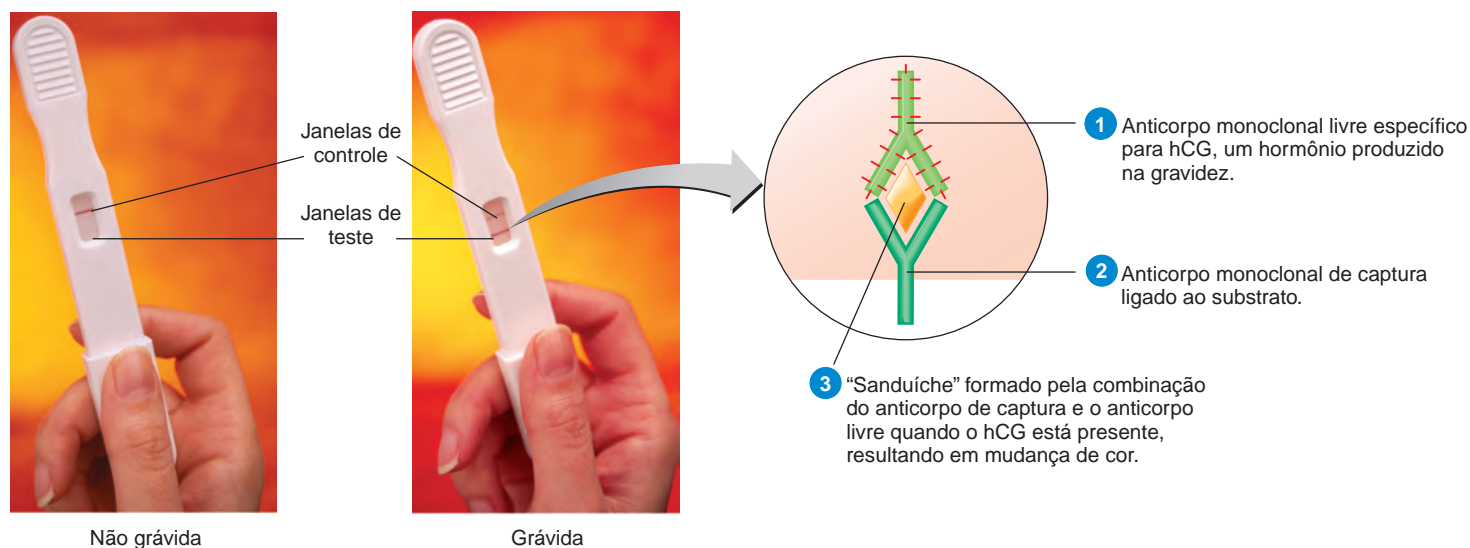



Figura 18.13 O uso de anticorpos monoclonais em um teste de gravidez comercial. Os testes de gravidez comerciais detectam um hormônio, chamado de gonadotrofina coriônica humana (hCG, de *human chorionic gonadotropin*), que é excretado somente na urina de mulheres grávidas.

P Qual o antígeno usado no teste de gravidez comercial?

mesmo tempo, os testes sorológicos clássicos, como os testes de fixação por complemento, tem sido pouco realizados. A maioria dos testes modernos exige menos interpretação humana e, com frequência, requer menos pessoal altamente treinado.

O uso de certos testes *não imunológicos*, como CR e sondas de DNA, que foram discutidos no Capítulo 10 (página 292), está aumentando. Alguns desses testes se tornarão automatizados em uma escala significativa. Por exemplo, um chip de DNA (veja a Figura 10.17, página 293) contendo mais de 50.000 sondas de DNA para as informações genéticas esperadas em possíveis patógenos pode ser exposto a uma amostra teste. Esse chip é examinado e seus dados são automaticamente analisados. Os testes de PCR também estão se tornando altamente automatizados.

A maior parte dos testes diagnósticos descritos neste capítulo é utilizada nos países desenvolvidos, onde os orçamentos dos laboratórios são generosos em comparação com os recursos oferecidos no resto do mundo. Em vários países, os recursos financeiros alocados para todas as despesas médicas, e também para diagnóstico e tratamento, são muito pequenos.

As doenças diagnosticadas por esses testes também são mais prováveis de serem encontradas nos países desenvolvidos. Em muitas regiões do mundo, sobretudo na África tropical e na Ásia tropical, há uma necessidade urgente de testes diagnósticos para doenças endêmicas como malária, leishmaniose, Aids, doença de Chagas e tuberculose. Esses testes precisam ser de baixo custo e simples o suficiente para serem realizados por pessoal com o mínimo de treinamento.

Os testes descritos neste capítulo com frequência são usados para detectar doenças existentes. No futuro, o teste diagnóstico provavelmente será direcionado para a *prevenção* de doenças. Nos Estados Unidos, vemos com regularidade reportagens de surtos de doenças ocasionadas por alimentos. Métodos de amostragem que permitissem a identificação completa (inclusive de sorotipos patogênicos específicos) dentro de poucas horas, ou até mesmo minutos, seriam um enorme ganho de tempo. Esses testes diagnósticos rápidos seriam valiosos para rastrear surtos de doenças infecciosas ocasionadas por frutas e vegetais, como a epidemia de *Salmonella* no verão de 2008 nos Estados Unidos. Não existem barras de identificação que possam facilitar o rastreamento de produtos alimentícios empacotados. Essa economia de tempo seria traduzida em uma enorme poupança econômica para produtores e varejistas. Ainda, resultaria em menos doenças humanas e, talvez, salvaria vidas.

Nem todo tópico discutido neste capítulo foi necessariamente dirigido para a detecção e a prevenção de doenças. Como mencionado na página 509, os Mabs também têm aplicações terapêuticas. Eles já se encontram em uso para tratar certos tumores como o câncer de mama e o linfoma não Hodgkin, assim como doenças inflamatórias como a artrite reumatoide. Atualmente, os Mabs estão sendo testados para muitos outros distúrbios clínicos, incluindo asma, sepse, doença arterial coronariana e várias infecções virais. Ainda, os Mabs estão sendo pesquisados como uma maneira de tratar doenças neurológicas de causa imunológica, como a esclerose múltipla.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como o desenvolvimento de anticorpos monoclonais tem revolucionado o diagnóstico imunológico? **18-20**

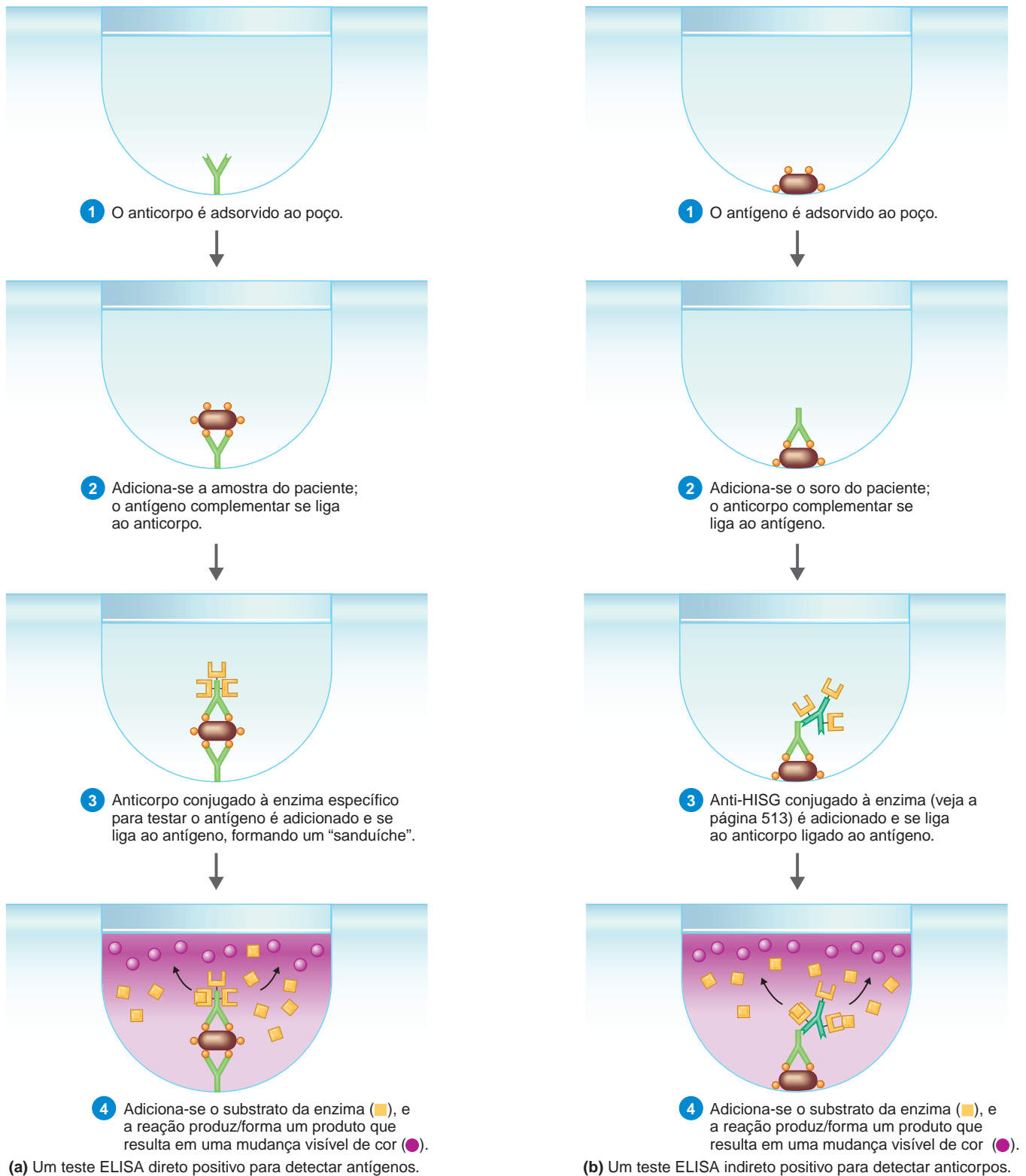



Figura 18.14 **O método ELISA.** Os componentes geralmente estão em pequenos poços de uma placa de microtitulação. Para uma ilustração de um técnico conduzindo um teste ELISA em uma placa de microtitulação e o uso de um computador para ler os resultados, veja a Figura 10.11, página 288.

P Diferencie um teste ELISA direto e um indireto.

RESUMO PARA ESTUDO

Vacinas (p. 501-506)

1. Edward Jenner desenvolveu uma prática moderna de vacinação quando inoculou pessoas com o vírus da varíola bovina para protegê-las contra a varíola humana.

Princípios e efeitos da vacinação (p. 501)

2. Imunidade coletiva é obtida quando a maioria da população se torna imune a uma doença.

Tipos de vacinas e suas características (p. 501-504)

3. Vacinas completas atenuadas consistem em micro-organismos atenuados (enfraquecidos); vacinas com vírus atenuados geralmente proporcionam imunidade para toda vida.
4. Vacinas completas inativadas consistem em bactérias mortas ou vírus mortos.
5. Toxoides são toxinas inativadas.
6. Vacinas de subunidades consistem em fragmentos antigênicos de um micro-organismo, incluindo as vacinas recombinantes e as vacinas acelulares.
7. Vacinas conjugadas combinam o antígeno desejado com uma proteína que reforça a resposta imunológica.
8. Vacinas de ácido nucleico, ou vacinas de DNA, induzem o recipiente a produzir a proteína antigênica.

O desenvolvimento de novas vacinas (p. 504-506)

9. Os vírus para as vacinas podem ser produzidos em animais, por cultura de células ou em embriões de galinha.
10. Vacinas recombinantes e vacinas de ácido nucleico não precisam ser produzidas em células ou animais.
11. Plantas geneticamente modificadas podem algum dia produzir vacinas comestíveis.
12. Os adjuvantes melhoram a eficácia de alguns antígenos.

Segurança das vacinas (p. 506)

13. As vacinas são o meio mais eficaz e seguro de controle das doenças infecciosas.

Imunodiagnóstico (p. 507-518)

Testes diagnósticos com base imunológica (p. 507)

1. Muitos testes que se baseiam nas interações entre anticorpos e antígenos têm sido desenvolvidos para detectar a presença de anticorpos ou antígenos em um paciente.
2. A sensibilidade de um teste diagnóstico é determinada pela porcentagem de amostras positivas que ele detecta corretamente; a especificidade é determinada pela porcentagem dos resultados falso-positivos que ele gera.

Anticorpos monoclonais (p. 507-509)

3. Os hibridomas são produzidos em laboratório pela fusão de uma célula cancerosa com um plasmócito secretor de anticorpo.
4. Um cultivo celular de hibridoma produz grandes quantidades de anticorpos do plasmócito, chamados de anticorpos monoclonais.

5. Anticorpos monoclonais são usados nos testes de identificação sorológica para prevenir a rejeição a tecidos transplantados e para produzir imunotoxinas no tratamento do câncer.

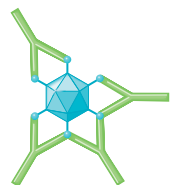
Reações de precipitação (p. 509, 510)

6. A interação dos antígenos solúveis com os anticorpos IgG ou IgM resulta em reações de precipitação.
7. As reações de precipitação dependem da formação de treliças e ocorrem melhor quando o antígeno e o anticorpo estão presentes em proporções ótimas. Os excessos de um componente ou de outro reduzem a formação das treliças e a precipitação subsequente.
8. O teste do anel de precipitina é realizado em um pequeno tubo.
9. Os procedimentos de imunodifusão são reações de precipitação conduzidas em um gel de meio ágar.
10. A imunoeletroforese combina a eletroforese com a imunodifusão para analisar as proteínas do soro.

Reações de aglutinação (p. 510-512)

11. A interação de antígenos particulados (células que carregam os antígenos) com anticorpos resulta em reações de aglutinação.
12. As doenças podem ser diagnosticadas pela combinação do soro do paciente com um antígeno conhecido.
13. As doenças também podem ser diagnosticadas por elevação do título ou soroconversão (de um estágio sem anticorpos para um com a presença de anticorpos).
14. As reações de aglutinação direta podem ser usadas para determinar o título de anticorpo.
15. Os anticorpos provocam aglutinação visível de antígenos solúveis fixados às esferas de látex nos testes de aglutinação passiva ou indireta.
16. As reações de hemaglutinação envolvem reações de aglutinação que utilizam hemácias. As reações de hemaglutinação são usadas para tipagem sanguínea, diagnóstico de certas doenças e identificação de vírus.

Reações de neutralização (p. 512)

17. Nas reações de neutralização, os efeitos nocivos de uma exotoxina bacteriana ou vírus são eliminados por um anticorpo específico.
18. Uma antitoxina é um anticorpo produzido em resposta a uma exotoxina bacteriana ou a um toxoide que neutraliza a exotoxina.
19. Em um teste de neutralização viral, a presença de anticorpos contra um vírus pode ser detectada pela capacidade do anticorpo de impedir os efeitos citopáticos dos vírus nas culturas de células.
20. Os anticorpos contra certos vírus podem ser detectados por sua capacidade de interferir na hemaglutinação viral em testes de inibição da hemaglutinação viral.

Reações de fixação do complemento (p. 512, 513)

21. As reações de fixação do complemento são testes sorológicos com base na depleção de uma quantidade fixa do complemento na presença de uma reação antígeno-anticorpo.

Técnicas de anticorpos fluorescentes (p. 513, 514)

22. As técnicas de anticorpos fluorescentes utilizam anticorpos marcados com corantes fluorescentes.

23. Os testes de anticorpos fluorescentes diretos são utilizados para identificar micro-organismos específicos.
24. Os testes de anticorpos fluorescentes indiretos são utilizados para demonstrar a presença de anticorpo no soro.
25. Um citômetro de fluxo ativado por fluorescência pode ser usado para detectar e contar células marcadas com anticorpos fluorescentes.

Ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA) (p. 514-516)

26. As técnicas de ELISA utilizam anticorpos conjugados a uma enzima.
27. As reações antígeno-anticorpo são detectadas por atividade enzimática. Se a enzima indicadora estiver presente na placa, significa que uma reação antígeno-anticorpo ocorreu.
28. O ELISA direto é utilizado para detectar antígenos contra um anticorpo específico ligado à placa de teste.
29. O ELISA indireto é utilizado para detectar anticorpos contra um antígeno ligado à placa de teste.

Western blotting (immunoblotting) (p. 516)

30. Anticorpos do soro separados por eletroforese são identificados com um anticorpo ligado a uma enzima.

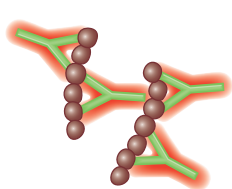
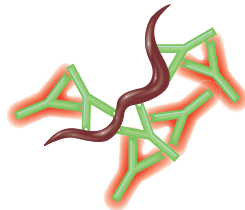
O futuro da terapêutica e do diagnóstico imunológicos (p. 516-518)

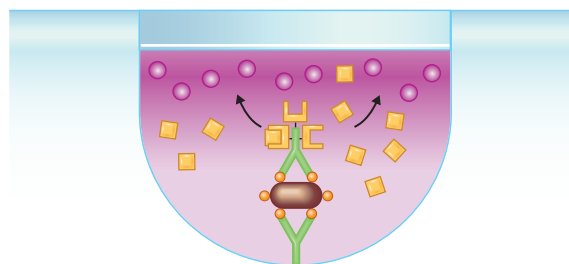
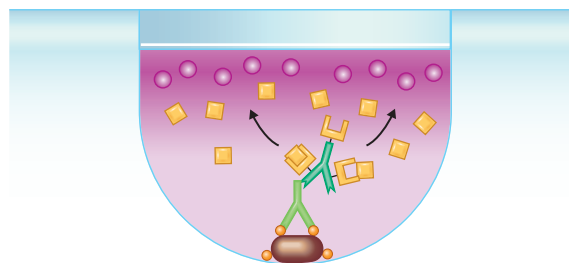
31. O uso de anticorpos monoclonais tornará possível a realização de novos testes diagnósticos.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Classifique as seguintes vacinas de acordo com o tipo. Qual delas causaria a doença que deveria prevenir?
   a. Vírus atenuado do sarampo.
   b. *Rickettsia prowazekii* mortas.
   c. Toxoide do *Vibrio cholerae.*
   d. Antígeno da hepatite B produzido em leveduras.
   e. Polissacarídeos purificados de *Streptococcus pyogenes.*
   f. Polissacarídeo de *Haemophilus influenzae* ligado ao toxoide diftérico.
   g. Um plasmídeo contendo genes para proteína da influenza A.
2. Defina os seguintes termos e dê um exemplo do uso diagnóstico de cada reação:
   a. Hemaglutinação viral.
   b. Inibição da hemaglutinação.
   c. Aglutinação passiva.
3. **DESENHE** Identifique os componentes dos testes FA direto e indireto nas situações a seguir. Qual é o teste direto? Que teste fornece a prova definitiva da doença?

(a) A raiva pode ser diagnosticada *postmortem* misturando-se tecido cerebral com anticorpos fluorescentes.

(b) A sífilis pode ser diagnosticada pela adição do soro de pacientes a uma lâmina contendo *treponema pallidum*. Adiciona-se a seguir imunoglobina anti-humana marcada com corante fluorescente.

4. **DESENHE** Identifique os componentes dos testes ELISA direto e indireto nas situações a seguir. Qual é o teste direto? Que teste fornece a prova definitiva da doença?

(a) Secreções respiratórias para detectar o vírus respiratório sincicial.

(b) Sangue para detectar anticorpos contra o vírus da imunodeficiência humana.

5. Como os anticorpos monoclonais são produzidos? Qual é sua vantagem em relação ao soro de cavalo?
6. Explique os efeitos do excesso de antígeno e anticorpo em uma reação de precipitação. Em que o teste do anel de precipitina difere de um teste de imunodifusão?
7. Em que o antígeno em uma reação de aglutinação difere de um antígeno em uma reação de precipitação?

8. Relacione os testes sorológicos na coluna A com suas descrições na coluna B.

Coluna A	Coluna B
_________ **a.** Precipitação	**1.** Ocorre com antígenos particulados
_________ **b.** *Western blotting*	**2.** Utiliza uma enzima como indicador
_________ **c.** Aglutinação	**3.** Utiliza hemácias como indicador
_________ **d.** Fixação do complemento	**4.** Utiliza imunoglobulina anti-humana sérica
_________ **e.** Neutralização	**5.** Ocorre com um antígeno solúvel
_________ **f.** ELISA	**6.** Usado para determinar a presença de antitoxina

9. Relacione os testes na coluna A com sua reação positiva na coluna B.

Coluna A	Coluna B
_________ **a.** Aglutinação	**1.** Atividade da peroxidase
_________ **b.** Fixação do complemento	**2.** Efeitos nocivos de agentes não vistos
_________ **c.** ELISA	**3.** Sem hemólise
_________ **d.** Teste FA	**4.** Linha branca turva
_________ **e.** Neutralização	**5.** Agregação celular
_________ **f.** Precipitação	**6.** Fluorescência

Múltipla escolha

Use as seguintes opções para responder as questões 1 e 2:

a. Hemólise.
b. Hemaglutinação.
c. Inibição da hemaglutinação.
d. Sem hemólise.
e. Anel de precipitina.

1. Soro do paciente, vírus influenza, hemácias de carneiro e anti-hemácias de carneiro foram misturados em um tubo. O que deve acontecer se o paciente apresentar anticorpos contra o vírus da influenza?
2. Soro do paciente, *Chlamydia*, complemento de cobaia, hemácias de carneiro e anti-hemácias de carneiro foram misturados em um tubo. O que deve acontecer se o paciente apresentar anticorpos contra *Chlamydia*?
3. Os exemplos nas questões 1 e 2 são
   a. Testes diretos. **b.** Testes indiretos.

Utilize as seguintes alternativas para responder as questões 4 e 5:

a. Anti-*Brucella*. **c.** Substrato para a enzima.
b. *Brucella*.

4. Qual é o terceiro passo em um teste ELISA direto?
5. Qual dos itens provém do paciente em um teste ELISA indireto?
6. Em um teste de imunodifusão, uma tira de papel filtro contendo antitoxina diftérica é colocada em um meio de cultura sólido. Então, as bactérias são estriadas perpendicularmente ao papel. Se as bactérias forem toxigênicas,
   a. o papel ficará vermelho.
   b. uma linha de precipitado antígeno-anticorpo se formará.
   c. as células irão sofrer lise.
   d. as células irão fluorescer.
   e. nenhuma das alternativas.

Utilize as seguintes alternativas para responder as questões 7 a 9:

a. Anticorpo fluorescente direto.
b. Anticorpo fluorescente indireto.
c. Imunoglobulina da raiva.
d. Vírus da raiva morto.
e. Nenhuma das alternativas.

7. O tratamento dado a uma pessoa que foi mordida por um morcego com o vírus da raiva.
8. O teste utilizado para identificar o vírus da raiva no cérebro de um cachorro.
9. O teste utilizado para detectar a presença de anticorpos no soro do paciente.
10. Em um teste de aglutinação, oito diluições seriadas foram preparadas para determinar o título de anticorpo: o tubo 1 continha uma diluição 1:2; o tubo 2, uma diluição 1:4, e assim por diante. Se o tubo 5 é o último tubo em que se observa aglutinação, qual é o título de anticorpo?
    a. 5 **b.** 1:5 **c.** 32 **d.** 1:32

Pensamento crítico

1. Que problemas estão associados com o uso de vacinas completas atenuadas?
2. Muitos dos testes sorológicos requerem uma fonte de anticorpos contra os patógenos. Por exemplo, no teste para *Salmonella*, os anticorpos anti-*Salmonella* são misturados com uma bactéria desconhecida. Como esses anticorpos são obtidos?
3. Um teste para detectar anticorpos contra *Treponema pallidum* utiliza o antígeno cardiolipina e o soro do paciente (suspeito de apresentar anticorpos). Por que os anticorpos reagem com a cardiolipina? Qual é a doença?

Aplicações clínicas

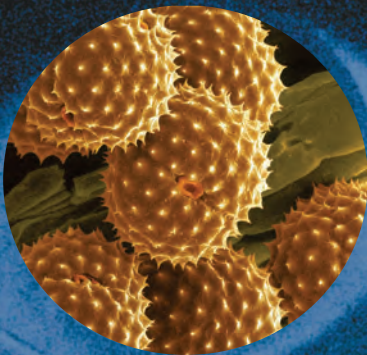
1. Qual das situações a seguir é prova de um estado clínico? Por que a outra situação não confirma o estado clínico? Qual é a doença?
   a. *Mycobacterium tuberculosis* é isolado de um paciente.
   b. Anticorpos contra *M. tuberculosis* são encontrados em um paciente.
2. A toxina eritrogênica de estreptococos é injetada sob a pele de uma pessoa no teste de Dick. Quais são os resultados esperados se a pessoa possuir anticorpos contra essa toxina? Que tipo de reação imunológica é essa? Qual é a doença?
3. Os dados a seguir foram obtidos de testes FA para anti-*Legionella* em quatro pessoas. A que conclusão podemos chegar? Qual é a doença?

	Título de anticorpo			
	Dia 1	**Dia 7**	**Dia 14**	**Dia 21**
Paciente A	128	256	512	1.024
Paciente B	0	0	0	0
Paciente C	256	256	256	256
Paciente D	0	0	128	512

4. Maria decidiu que seus filhos não iriam tomar a vacina de catapora relativamente nova e utilizou o método de seus pais: ela queria que seus filhos contraíssem catapora para que pudessem desenvolver imunidade natural. As duas crianças contraíram catapora. O menino apresentou coceira branda e vesículas na pele, porém a menina ficou hospitalizada por meses com celulite estreptocócica (erisipela) e recebeu vários transplantes de pele antes de se recuperar. A governanta de Maria contraiu catapora das crianças e veio a falecer. Quase metade das mortes causadas por catapora ocorre nos adultos.
   a. Que responsabilidades devem ter os pais pela saúde de seus filhos?
   b. Quais os direitos do indivíduo? A vacinação deveria ser exigida por lei?
   c. Que responsabilidades devem ter os indivíduos (p. ex., os pais) pela saúde da comunidade?
   d. As vacinas são aplicadas em pessoas saudáveis. Que riscos são aceitáveis?

19 Distúrbios Associados ao Sistema Imune

Neste capítulo, veremos que nem todas as respostas do sistema imune produzem um efeito desejado. Um exemplo conhecido é a rinite alérgica, que resulta da exposição repetida ao pólen. Sabemos que uma transfusão de sangue será rejeitada se o sangue do doador e o sangue do recipiente não forem compatíveis, e que a rejeição também é um problema com órgãos transplantados. Nosso próprio tecido pode ser acidentalmente atacado pelo sistema imune, causando doenças que classificamos como autoimunes. Certos antígenos, chamados de superantígenos, ativam indiscriminadamente muitos receptores de células T de uma vez (veja tempestade de citocinas no Capítulo 17, página 493), resultando em dano ao tecido (veja também o Capítulo 15, página 436).

Algumas pessoas nascem com um sistema imune defeituoso e, em todos nós, a eficácia desse sistema diminui com a idade. Nosso sistema imune pode ser deliberadamente paralisado (*imunossuprimido*) para impedir a rejeição de órgãos transplantados. As doenças podem também prejudicá-lo, em particular a infecção por HIV, um vírus que ataca especificamente o sistema imune.

SOB O MICROSCÓPIO

Grãos de pólen. Durante certas épocas do ano, as plantas liberam grãos de pólen como estes, causando espirros, lacrimejamento e coriza da rinite alérgica.

P&R

Como o pólen microscópico das plantas pode causar desconforto nas pessoas?

Procure pela resposta neste capítulo.

Tabela 19.1 Tipos de hipersensibilidade

Tipo de reação	Período antes dos sinais clínicos	Características	Exemplos
Tipo I (anafilática)	<30 min	A IgE liga-se aos mastócitos ou basófilos; causa a desgranulação do mastócito ou basófilo e a liberação de substâncias reativas como a histamina.	Choque anafilático por injeções e picadas de insetos; condições alérgicas comuns como rinite alérgica, asma.
Tipo II (citotóxica)	5 a 12 horas	O antígeno causa a formação de anticorpos IgM e IgG que se ligam à célula-alvo; quando combinada com a ação do complemento, destrói a célula-alvo.	Reações de transfusão; incompatibilidade de Rh.
Tipo III (complexo imune)	3 a 8 horas	Anticorpos e antígenos formam complexos que causam inflamação prejudicial.	Reação de Arthus, doença do soro.
Tipo IV (celular tardia ou hipersensibilidade tardia)	24 a 48 horas	Antígenos ativam as células T_C para matar a célula-alvo.	Rejeição de tecidos transplantados; dermatite de contato como a hera venenosa; certas doenças crônicas como a tuberculose.

Hipersensibilidade

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

19-1 Definir *hipersensibilidade.*

19-2 Descrever o mecanismo de anafilaxia.

19-3 Comparar e contrastar anafilaxia sistêmica e localizada.

19-4 Explicar como funcionam os testes de alergia sobre a pele.

19-5 Definir *dessensibilização* e *anticorpos de bloqueio*.

19-6 Descrever os mecanismos das reações citotóxicas e como elas podem ser induzidas por drogas.

19-7 Descrever as bases dos sistemas dos grupos sanguíneos ABO e Rh.

19-8 Explicar a relação entre grupos sanguíneos, sangue, transfusões e doença hemolítica do recém-nascido.

19-9 Descrever o mecanismo das reações de complexo imune.

19-10 Descrever o mecanismo das reações celulares tardias e dar dois exemplos.

O termo *hipersensibilidade* refere-se a uma resposta antigênica maior do que aquela considerada normal; o termo *alergia* é o mais conhecido e é essencialmente um sinônimo. As respostas de hipersensibilidade ocorrem em pessoas que foram *sensibilizadas* por exposição prévia a um antígeno, que neste contexto algumas vezes é chamado de **alérgeno**. Quando uma pessoa previamente sensibilizada é exposta novamente ao antígeno, seu sistema imune reage de modo prejudicial. Os quatro principais tipos de reações de hipersensibilidade, resumidos na **Tabela 19.1**, são as reações anafilática, citotóxica, de complexo imune e celulares (ou do tipo tardio).

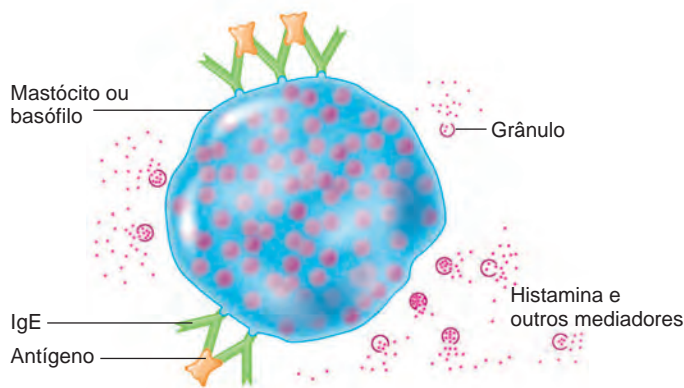
TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Todas as reações imunes são benéficas? **19-1**

Reações tipo I (anafiláticas)

As reações tipo I, ou anafiláticas, geralmente ocorrem de 2 a 30 minutos após uma pessoa sensibilizada a um antígeno ser exposta novamente a ele. *Anafilaxia* significa "o oposto de protegido", do prefixo *ana-*, que significa contra, e do termo grego *phylaxis*, que significa proteção. **Anafilaxia** é um termo inclusivo para as reações causadas quando certos antígenos se combinam com os anticorpos IgE. As respostas anafiláticas podem ser *reações sistêmicas*, que produzem o choque e a dificuldade de respirar e costumam ser fatais em algumas ocasiões, ou *reações localizadas*, que incluem condições alérgicas comuns como a rinite alérgica, a asma e a urticária (áreas da pele levemente inchadas, em geral avermelhadas e irritadas).

Os anticorpos IgE produzidos em resposta a um antígeno, como o veneno de inseto ou o pólen de plantas, ligam-se às superfícies de células como os mastócitos e os basófilos. Esses dois tipos celulares são semelhantes morfologicamente e em suas contribuições para as reações alérgicas. Os **mastócitos** são predominantes principalmente no tecido conjuntivo da pele, no trato respiratório e ao redor dos vasos sanguíneos. O nome vem da palavra alemã *mastzellen*, que significa "bem alimentado"; os mastócitos são preenchidos com grânulos que já se acreditou erroneamente terem sido ingeridos (**Figura 19.1a**). Os **basófilos** circulam na corrente sanguínea, onde representam pouco mais de 1% dos leucócitos. Ambas as células são preenchidas com grânulos que contêm uma variedade de substâncias químicas chamadas de *mediadores*.

Os mastócitos e os basófilos podem ter até 500.000 sítios para a fixação de IgE. A região Fc (haste) de um anticorpo IgE (veja a Figura 17.3, página 480) pode se fixar a um desses sítios receptores nessa célula, deixando livres dois sítios de ligação ao antígeno. Naturalmente, os monômeros de IgE fixados não serão específicos para o mesmo antígeno. Porém, quando um antígeno como o pólen de plantas encontra dois anticorpos adjacentes com a mesma espe-

(a) Os anticorpos IgE, produzidos em resposta a um antígeno, recobrem os mastócitos e os basófilos. Quando um antígeno faz uma ponte no espaço entre as duas moléculas de anticorpos adjacentes de mesma especificidade, a célula sofre desgranulação e libera a histamina e outros mediadores.

(b) Um mastócito desgranulado que reagiu com um antígeno e liberou grânulos de histamina e outros mediadores reativos.

Figura 19.1 Os mecanismos da anafilaxia.

P A que tipos celulares os anticorpos IgE se ligam?

cificidade adequada, pode se ligar a um sítio de ligação ao antígeno em cada anticorpo, fazendo uma ponte no espaço entre eles. Essa ponte desencadeia a **desgranulação** do mastócito ou basófilo, que libera seus grânulos juntamente com os mediadores neles contidos (**Figura 19.1b**).

Esses mediadores produzem os efeitos desagradáveis e nocivos de uma reação alérgica. O mediador mais conhecido é a **histamina**. A liberação de histamina aumenta a permeabilidade e a dilatação dos capilares sanguíneos, resultando em edema (inchaço) e eritema (vermelhidão). Outros efeitos incluem o aumento da secreção de muco (p. ex., coriza) e da contração das células musculares lisas, que resulta em dificuldade para respirar nos brônquios respiratórios.

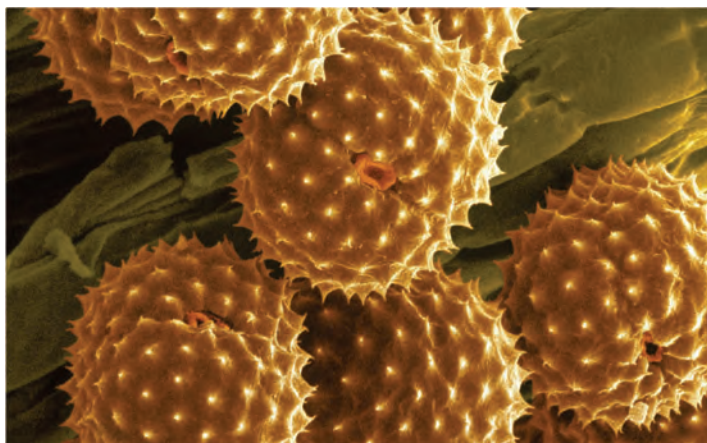
Outros mediadores incluem os **leucotrienos** de vários tipos e as **prostaglandinas**. Esses mediadores não estão pré-formados e estocados em grânulos, porém são sintetizados pela célula ativada por um antígeno. Uma vez que os leucotrienos tendem a causar contrações prolongadas de certos músculos lisos, suas ações contribuem para os espasmos dos brônquios que ocorrem durante os ataques de asma. As prostaglandinas afetam os músculos lisos do sistema respiratório e aumentam a secreção de muco.

Coletivamente, todos esses mediadores funcionam como agentes quimiotáticos, que em poucas horas atraem neutrófilos e eosinófilos para o local da célula desgranulada. Esses mediadores então ativam vários fatores que causam sintomas inflamatórios, como distensão dos capilares, inchaço, aumento da secreção de muco e contrações involuntárias dos músculos lisos.

Anafilaxia sistêmica

Na virada do século XX, dois biólogos franceses estudavam as respostas de cães ao veneno da água-viva. Grandes doses do veneno geralmente matavam os cães, mas em algumas ocasiões alguns cães sobreviviam às injeções. Esses cães sobreviventes foram utilizados para repetir os experimentos com o veneno, e os resultados foram surpreendentes. Mesmo uma dose muito pequena do veneno, que seria quase inócua, matava os cães. Eles apresentavam dificuldades respiratórias, entravam em choque devido ao colapso do sistema cardiovascular e morriam rapidamente. A esse fenômeno foi dado o nome de *choque anafilático*.

A **anafilaxia sistêmica** (ou *choque anafilático*) pode surgir quando um indivíduo sensibilizado a um antígeno é exposto a ele novamente. Os antígenos injetados são mais prováveis de causar uma resposta dramática do que os antígenos introduzidos por outras portas de entrada. A liberação dos mediadores faz com que os vasos sanguíneos periféricos distribuídos ao longo do corpo se dilatem, resultando em queda da pressão sanguínea (choque). Essa reação pode ser fatal em alguns minutos. Há pouco tempo para agir quando alguém desenvolve anafilaxia sistêmica. O tratamento em geral envolve a administração de uma seringa preenchida de epinefrina, uma droga que contrai os vasos sanguíneos e eleva a pressão sanguínea. Nos Estados Unidos, 50 a 60 pessoas morrem a cada ano de choque anafilático causado por picadas de inseto.

Talvez você conheça alguém que reage desse modo à penicilina. Nessas pessoas, a penicilina, que é um hapteno (não pode induzir a formação de anticorpos por si só; veja o Capítulo 17), se combina com uma proteína sérica transportadora. Somente então se torna imunogênica. A alergia à penicilina ocorre provavelmente em cerca de 2% da população. Testes de pele para a sensibilidade à penicilina podem ser realizados. Pacientes que apresentam um teste de pele positivo podem ser dessensibilizados (veja a página 526) por uma série de administrações orais de doses crescentes de penicilina V. O intervalo entre as doses é de apenas 15 minutos, e o procedimento é concluído em quatro horas. A dessensibilização é válida apenas para uma série ininterrupta de penicilina imediatamente após o procedimento. A alergia à penicilina também inclui o risco de exposição a outras drogas relacionadas, como o carbapenemo (página 561).

(a) Micrografia de grãos de pólen.

(b) Micrografia de um ácaro.

Figura 19.2 Anafilaxia localizada. Antígenos como esses inalados são a causa mais comum da anafilaxia localizada.

P Compare anafilaxia sistêmica e anafilaxia localizada.

Anafilaxia localizada

Enquanto a sensibilização a um antígeno injetado é uma causa comum da anafilaxia sistêmica, a **anafilaxia localizada** geralmente está associada com antígenos que são ingeridos (alimentos) ou inalados (pólen) (**Figura 19.2a**). Os sintomas dependem principalmente da via pela qual o antígeno entra no organismo.

P&R Nas alergias envolvendo o sistema respiratório superior, como a rinite alérgica, a sensibilização normalmente envolve os mastócitos das membranas mucosas do trato respiratório superior. O antígeno trazido pelo vento pode ser um material comum do ambiente, como pólen de plantas, esporos de fungos, fezes de ácaros (**Figura 19.2b**) ou escamas de animais.* Os sintomas típicos são olhos lacrimejantes e coçando, cavidades nasais congestionadas, tosse e espirro. Drogas anti-histamínicas, que competem pelos sítios do receptor de histamina, geralmente são utilizadas para tratar esses sintomas.

A asma é uma reação alérgica que afeta principalmente o trato respiratório inferior. Os sintomas como chiado (respiração áspera) e respiração ofegante são causados pela contração dos músculos lisos nos brônquios.

Por razões desconhecidas, a asma tem se tornado quase uma epidemia, afetando cerca de 10% das crianças na sociedade ocidental, mas que tende a diminuir com o tempo. Especula-se que a falta de exposição às infecções durante a infância nos países desenvolvidos, a chamada *hipótese da higiene*, seja um fator no aumento da incidência de asma. O estresse emocional ou mental também pode contribuir para preciptar um ataque. Os sintomas da asma geralmente são controlados pelo uso de sprays de inalação, os quais infelizmente podem ser de difícil utilização em crianças muito pequenas. O Xolair (omalizumab) é um medicamento recente que está disponível, mas é um tratamento de alto custo para asmas alérgicas severas. Ele atua bloqueando a IgE.

Os antígenos que entram no organismo via trato gastrintestinal também podem sensibilizar um indivíduo. Muitos de nós conhecemos alguém que é alérgico a um determinado alimento. Com frequência, as chamadas alergias a alimentos podem não estar relacionadas à hipersensibilidade, sendo mais precisamente descritas como *intolerâncias alimentares*. Por exemplo, muitas pessoas são incapazes de digerir a lactose no leite, pois não possuem a enzima que degrada esse dissacarídeo do leite. A lactose entra no intestino, onde osmoticamente retém o fluido, causando diarreia.

O distúrbio gastrintestinal é um sintoma comum das alergias alimentares, mas também pode ser o resultado de muitos outros fatores. Urticárias são mais características de uma alergia alimentar verdadeira, e a ingestão do antígeno pode causar anafilaxia sistêmica. Já houve registro de morte quando uma pessoa sensível a peixe ingeriu batatas fritas preparadas em óleo previamente utilizado para fritar peixe. Testes de pele não são indicadores confiáveis para o diagnóstico de alergias relacionadas a alimentos, e testes inteiramente controlados para a hipersensibilidade a alimentos ingeridos são difíceis de realizar. Apenas oito alimentos são responsáveis por 97% das alergias relacionadas a alimentos: ovos, amendoins, nozes, leite, soja, peixe, trigo e ervilhas. A maioria das crianças que apresentam alergia a leite, ovo, trigo e soja desenvolve tolerância à medida que cresce, mas as reações a amendoins, nozes e frutos do mar tendem a persistir.

Estima-se que 1,5 milhão de norte-americanos seja alérgico a amendoins, e cerca de 100 mortes ocorrem anualmente. Portanto, estudos importantes sobre esse problema encontram-se em andamento, incluindo drogas, vacinas e o desenvolvimento de amendoins menos alergênicos. É interessante notar que na China há uma incidência relativamente baixa de alergia a amendoins, embora eles

* *Escamas* é um termo geral para partículas microscópicas derivadas do pelo ou da pele de animais. Um gato, por exemplo, carrega consigo cerca de 100 mg de escamas sobre sua pelagem e perde cerca de 0.1 mg por dia. Isto se acumula no estofamento e no carpete. Pessoas com alergia a camundongos, gerbo e outros animais pequenos são mais prováveis a serem alérgicos aos componentes da urina desses animais que se acumula nas gaiolas.

Figura 19.3 **Um teste de pele para identificar alérgenos.** Gotas de fluido contendo substâncias-teste são colocadas sobre a pele. Uma leve arranhadura é feita com uma agulha de modo a permitir que as substâncias penetrem na pele. Vermelhidão e inchaço no local identificam a substância como causa provável de uma reação alérgica.

P **O que é inoculado na pele em um teste cutâneo?**

sejam comuns nas comidas chinesas. Talvez seja porque a cozinha chinesa envolve cozimento e fritura a baixas temperaturas, enquanto o ato de tostar os amendoins concentra as propriedades alergênicas.

Os sulfitos, a que muitas pessoas são alérgicas, são um problema frequente. Seu uso é comum em alimentos e bebidas e, embora as embalagens de alimentos devam indicar sua presença, na prática é difícil de evitá-los. Um produto alimentar pode entrar em contato com um alérgeno de alimento pelo processamento ou pelos utensílios de cozinha utilizados para outros alimentos. Em um relatório do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, 25% dos confeitados, sorvetes e produtos cristalizados revelaram-se positivos para alérgenos do amendoim embora o amendoim não estivesse discriminado nos rótulos dos produtos. Nos Estados Unidos, estima-se que 200 pessoas morram por ano de reações alérgicas graves a alimentos.

Prevenção de reações anafiláticas

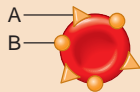
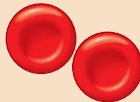
Evitar o contato com o antígeno sensibilizante é o modo mais óbvio de prevenir as reações alérgicas. Infelizmente, isso nem sempre é possível. Algumas pessoas sofrem uma reação alérgica após ingerirem uma variedade de alimentos. Nesses casos, elas podem não saber exatamente a que antígeno são sensíveis. Em alguns casos, os testes de pele podem auxiliar no diagnóstico (**Figura 19.3**). Esses testes envolvem a inoculação de pequenas quantidades do antígeno suspeito logo abaixo da epiderme. A sensibilidade ao antígeno é indicada por uma rápida reação inflamatória que produz vermelhidão, inchaço e irritação no local de inoculação. Essa pequena área afetada é chamada de *pápula*.

Uma vez identificado o antígeno responsável, a pessoa pode evitar o contato ou então realizar uma **dessensibilização**. Esse procedimento geralmente consiste em uma série de dosagens do antígeno injetadas cuidadosamente sob a pele. O objetivo é causar a produção de anticorpos IgG em vez de IgE, na esperança de que os anticorpos IgG circulantes atuem como *anticorpos bloqueadores* para interceptar e neutralizar os antígenos, antes que eles possam reagir com a IgE ligada à célula. A dessensibilização não é um procedimento sempre bem-sucedido, porém é eficaz em 65 a 75% das pessoas cujas alergias são induzidas por antígenos inalados e em 97% das pessoas alérgicas a toxinas de insetos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Em que tecidos são encontrados os mastócitos, que são os principais responsáveis por reações alérgicas como a rinite alérgica? **19-2**
- ✓ O que oferece maior risco à vida: a anafilaxia sistêmica ou a localizada? **19-3**
- ✓ Como podemos saber se uma pessoa é sensível a um alérgeno em particular, como o pólen das plantas? **19-4**
- ✓ Que tipos de anticorpos precisam ser bloqueados para a dessensibilização de uma pessoa propensa a alergias? **19-5**

Reações do tipo II (citotóxicas)

As reações tipo II (citotóxicas) geralmente envolvem a ativação do complemento pela combinação de anticorpos IgG ou IgM com uma célula antigênica. Essa ativação estimula o complemento a causar a lise da célula afetada, que pode ser uma célula estranha ou uma célula do hospedeiro que carrega um determinante antigênico estranho (como uma droga) em sua superfície. O dano celular adicional pode ser causado em 5 a 8 horas pela ação dos macrófagos e de outras células que atacam as células recobertas com anticorpo.

As reações de hipersensibilidade citotóxicas mais conhecidas são as *reações de transfusão*, nas quais as hemácias são destruídas como resultado da reação com os anticorpos circulantes. Entre essas reações estão os sistemas do grupo sanguíneo que incluem os antígenos ABO e Rh.

O sistema de grupo sanguíneo ABO

Em 1901, Karl Landsteiner descobriu que o sangue humano podia ser agrupado em quatro diferentes tipos principais, designados A, B, AB e O. Esse método de classificação é chamado de **sistema de grupo sanguíneo ABO**. Desde então, outros sistemas de grupos sanguíneos, como o sistema de Lewis e o sistema MN, foram descobertos, mas nossa discussão será limitada aos dois mais conhecidos, os sistemas ABO e Rh. As principais características do sistema ABO estão resumidas na **Tabela 19.2.**

O tipo sanguíneo ABO de uma pessoa depende da presença ou ausência de antígenos carboidratos localizados na membrana celular das hemácias. As células do tipo sanguíneo O não têm os antígenos A e B. A Tabela 19.2 mostra que o plasma das pessoas com determinado tipo sanguíneo, como o A, tem anticorpos contra o tipo sanguíneo alternativo, anticorpo anti-B. Presume-se que esses anticorpos sejam produzidos em resposta a micro-organismos e gêneros alimentícios que apresentem determinantes antigênicos muito similares aos antígenos do grupo sanguíneo. Pessoas com células do tipo AB têm o plasma sem anticorpos contra os

Tabela 19.2 O sistema de grupo sanguíneo ABO

Grupo sanguíneo	Antígenos do eritrócito ou hemácia	Ilustração	Anticorpos plasmáticos	Sangue que pode ser recebido	Frequência (% população dos EUA)		
					Branco	Negro	Asiático
AB	A e B	A, B	Nem anticorpos anti-A, nem anti-B	A, B, AB, O	3	4	5
B	B		Anti-A	B, O	9	20	27
A	A		Anti-B	A, O	41	27	28
O	Nenhum		Anti-A e anti-B	O	47	49	40

antígenos A ou B. As pessoas do tipo O têm anticorpos contra os antígenos A e B.

Quando uma transfusão é incompatível, como quando sangue tipo B é transfundido para uma pessoa com tipo sanguíneo A, os antígenos nas células do tipo B reagirão com os anticorpos anti-B do soro do receptor. Essa reação antígeno-anticorpo ativa o complemento, que por sua vez causa a lise das hemácias do doador assim que entrem no sistema do receptor.

Tem sido observada uma relação entre os tipos sanguíneos e algumas doenças que podem estar associadas às diferenças marcantes dos tipos sanguíneos em certas regiões geográficas. Por exemplo, pessoas com sangue tipo O são mais suscetíveis à incidência e gravidade da cólera e de outras diarreias, enquanto pessoas com sangue tipo B são menos afetadas. Essa tendência parece refletir nos tipos sanguíneos encontrados no subcontinente indiano, onde o tipo B é comum e o tipo O é menos comum que em outras regiões. A Islândia tem uma porcentagem relativamente baixa dos tipos A e AB, possivelmente causada pela maior suscetibilidade desses tipos sanguíneos às epidemias de varíola nessa população geograficamente restrita. Mais da metade da população da África é do tipo O, sendo então afetada pela malária de modo menos severo.

O sistema de grupo sanguíneo Rh

Na década de 1930, pesquisadores descobriram a presença de um antígeno de superfície diferente nas hemácias. Logo após terem injetado coelhos com hemácias de macacos Rhesus, o soro do coelho apresentava anticorpos dirigidos contra as células sanguíneas do macaco, mas que também aglutinavam algumas hemácias humanas. Isso indicava que um antígeno em comum estava presente tanto nas hemácias humanas quanto nas hemácias dos macacos. O antígeno foi chamado de **fator Rh** (*Rh* de *Rhesus*). Aproximadamente 85% da população cujas células possuem esse antígeno são chamadas de Rh^+; aqueles que não apresentam esse antígeno nas hemácias (cerca de 15%) são Rh^-. Os anticorpos que reagem com o antígeno Rh não ocorrem naturalmente no soro de pessoas Rh^-, mas a exposição a esse antígeno pode sensibilizar o sistema imune a produzir anticorpos anti-Rh.

Transfusões sanguíneas e incompatibilidade de Rh. Se o sangue de um doador Rh^+ é dado a um receptor Rh^-, as hemácias do doador estimulam a produção de anticorpos anti-Rh no receptor transfundido. Se o receptor transfundido receber então hemácias Rh^+ em uma transfusão subsequente, uma reação hemolítica rápida e grave irá se desenvolver.

Doença hemolítica do recém-nascido. As transfusões de sangue não são o único modo pelo qual uma pessoa Rh^- pode se tornar sensível ao sangue Rh^+. Quando uma mulher Rh^- e um homem Rh^+ geram uma criança, há 50% de probabilidade de que a criança seja Rh^+ (**Figura 19.4**). Se a criança for Rh^+, a mãe Rh^- poderá tornar-se sensível a esse antígeno durante o nascimento, quando a placenta se romper e as hemácias Rh^+ do feto entrarem na circulação materna, fazendo com que o organismo da mãe produza anticorpos anti-Rh do tipo IgG. Se o feto em uma gravidez posterior for Rh^+, os anticorpos anti-Rh da mãe cruzarão a placenta e destruirão as hemácias fetais. O corpo do feto responde a esse ataque imune pela produção de grandes quantidades de hemácias imaturas chamadas de eritroblastos. Por isso, o termo *eritroblastose fetal* era usado antigamente para descrever o que agora é chamado de **doença hemolítica do recém-nascido** (**DHRN**). Antes do nascimento de um feto com essa condição, a circulação materna remove grande parte dos produtos tóxicos da desintegração das hemácias fetais. Após o nascimento, entretanto, o sangue fetal não é mais purificado pela mãe, e o recém-nascido desenvolve icterícia e anemia grave.

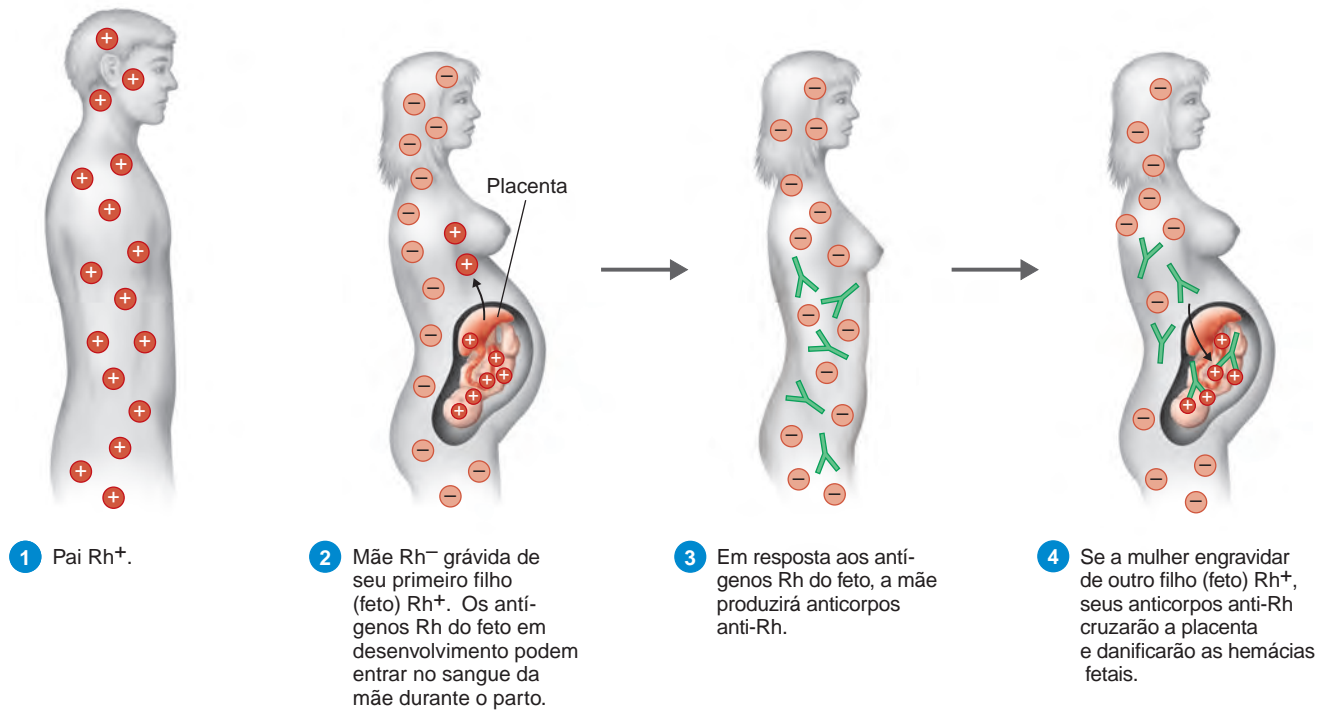



Figura 19.4 **Doença hemolítica do recém-nascido.**

P Que tipos de anticorpos cruzam a placenta?

Atualmente, a DHRN em geral é prevenida pela imunização passiva da mãe Rh^- no momento do parto de uma criança Rh^+ com anticorpos anti-Rh, que estão disponíveis comercialmente (RhoGAM). Esses anticorpos anti-Rh se combinam com qualquer hemácia Rh^+ fetal que tenha entrado na circulação da mãe, de modo que é pouco provável que ela se torne sensibilizada ao antígeno Rh. Se a doença não for prevenida, o sangue Rh^+ do recém-nascido contaminado com anticorpos maternos deve ser substituído por transfusão de sangue não contaminado.

Reações citotóxicas induzidas por drogas

As plaquetas (trombócitos) são corpos celulares minúsculos que são destruídos por reações citotóxicas induzidas por drogas na doença denominada **púrpura trombocitopênica**. As moléculas das drogas comum geralmente são haptenos, pois são muito pequenas para serem antigênicas por si mesmas; porém, na situação ilustrada na **Figura 19.5**, uma plaqueta se torna recoberta com moléculas de uma droga (a quinina é um exemplo comum), e a combinação resultante é antigênica. Os anticorpos e o complemento são necessários para causar a lise das plaquetas. Uma vez que as plaquetas são necessárias para a coagulação sanguínea, sua perda resulta em hemorragia, que aparece na pele como manchas de cor roxa (púrpura).

As drogas podem se ligar de modo semelhante às hemácias ou às células brancas do sangue, causando hemorragia local e produzindo sintomas descritos como manchas de "bolinho de amoras" na pele.* A destruição da causa imune das células brancas granulocíticas é chamada de **agranulocitose**, que afeta as defesas fagocíticas do organismo. Quando as hemácias são destruídas do mesmo modo, a condição é definida como **anemia hemolítica**.

* N. de T. Esse é um termo usado nos Estados Unidos em razão dos sintomas se parecerem com um doce típico do país: *blue-berry muffin*.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Além de um alérgeno e um anticorpo, o que mais é necessário para precipitar uma reação citotóxica? **19-6**

✓ Quais antígenos estão localizados nas membranas celulares do sangue do tipo O? **19-7**

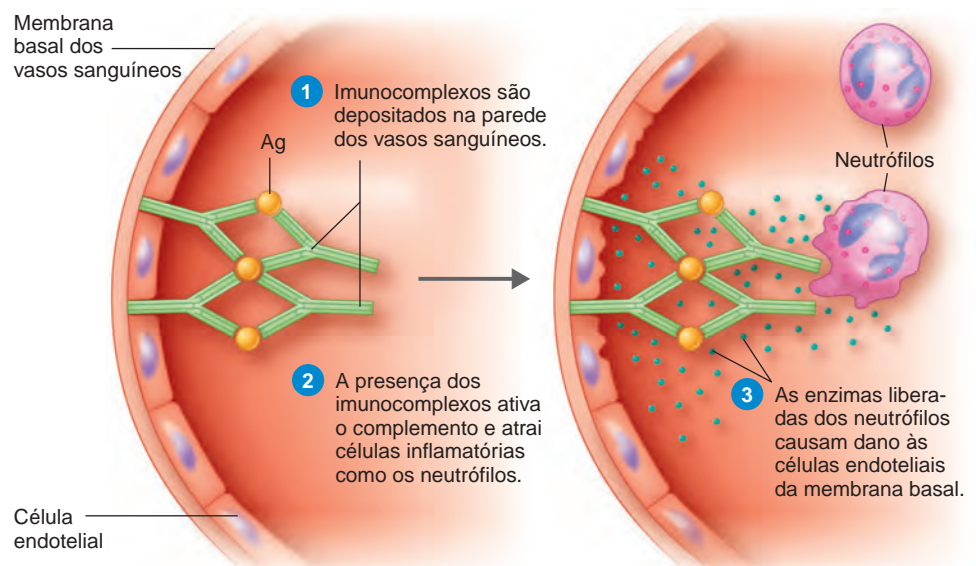
✓ Se um feto Rh^+ pode ser destruído por anticorpos anti-Rh maternos, por que essa destruição nunca ocorre durante a primeira gestação? **19-8**

Reações tipo III (imunocomplexos)

As reações tipo III envolvem anticorpos contra antígenos solúveis circulantes no soro. (Em contraste, as reações tipo II são dirigidas contra antígenos localizados nas superfícies das células ou dos tecidos.) Os complexos antígeno-anticorpo são depositados em órgãos e causam dano inflamatório.

Os **imunocomplexos** se formam apenas quando certas proporções de antígeno e anticorpo são atingidas. Os anticorpos envolvidos geralmente são IgG. Um excesso significativo de anticorpos leva à formação de complexos de fixação do complemento que são rapidamente removidos do organismo por fagocitose. Quando há um excesso significativo de antígenos, formam-se complexos solúveis que não fixam o complemento e não causam inflamação. Entretanto, quando existe uma determinada proporção antígeno-anticorpo, geralmente com um leve excesso de antígenos, os complexos solúveis que se formam são pequenos e escapam da fagocitose.

Figura 19.5 Púrpura trombocitopênica induzida por drogas. As moléculas de uma droga como a quinina se acumulam na superfície de uma plaqueta e estimulam uma resposta imune que destrói a plaqueta.

P O que de fato destrói as plaquetas na púrpura trombocitopênica?

A **Figura 19.6** ilustra as consequências. Esses complexos circulam no sangue, passam entre as células endoteliais dos vasos sanguíneos e ficam presas na membrana basal sob as células. Nesse local, os imunocomplexos podem ativar o complemento e causar uma reação inflamatória transitória, atraindo neutrófilos que liberam enzimas. A introdução repetida do mesmo antígeno pode levar a reações inflamatórias mais graves, resultando em dano às células endoteliais da membrana basal em um período de 2 a 8 horas.

A **glomerulonefrite** é uma condição patológica de imunocomplexos, geralmente resultante de uma infecção, que causa dano inflamatório aos glomérulos renais, os locais de filtração do sangue.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Os antígenos que causam reações de imunocomplexos são solúveis ou insolúveis? **19-9**

Reações tipo IV (celulares tardias)

Até este ponto, discutimos as respostas imunes humorais envolvendo IgE, IgG ou IgM. As reações tipo IV envolvem respostas imunes mediadas por células e são causadas principalmente por células T. Em vez de ocorrerem dentro de alguns minutos ou horas depois que um indivíduo sensibilizado é novamente exposto a um antígeno, essas **reações celulares tardias** (ou **hipersensibilidade tardia**) não são aparentes por um dia ou mais. Um fator importante na demora é o tempo necessário para que as células T e os macrófagos migrem e se acumulem próximos aos antígenos exógenos. A rejeição aos transplantes é mais comumente mediada por linfócitos T citotóxicos (CTLs; página 487), mas outros mecanismos são citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC; página 491) ou a lise mediada pelo complemento (página 464). Outro exemplo está descrito no quadro da página 531.

Figura 19.6 Hipersensibilidade mediada por imunocomplexos.

P Nomeie uma doença de imunocomplexo.

Figura 19.7 O desenvolvimento de uma alergia (dermatite alérgica de contato) aos catecóis da hera venenosa. O pentadecacatecol é uma mistura de catecóis, que são óleos secretados pela planta que se dissolvem facilmente no óleo da pele, penetrando-a. Na pele, os catecóis funcionam como haptenos – isto é, se combinam com as proteínas da pele para se tornar antigênicos e provocar uma resposta imune. O primeiro contato com a hera venenosa sensibiliza a pessoa suscetível, e a exposição subsequente resulta em dermatite de contato.

P Como os haptenos causam reações alérgicas?

Causas das reações celulares tardias

A sensibilização para as reações celulares tardias ocorre quando certos antígenos estranhos, principalmente aqueles que se ligam às células nos tecidos, são fagocitados por macrófagos e então apresentados aos receptores na superfície da célula T. O contato entre os sítios antigênicos determinantes e a célula T apropriada faz com que essa célula se prolifere em células T diferenciadas e células T de memória.

Quando uma pessoa sensibilizada dessa maneira é exposta novamente ao antígeno, uma reação de hipersensibilidade tardia pode ocorrer. As células de memória da exposição inicial ativam as células T que, ao interagirem com o antígeno-alvo, liberam citocinas destrutivas. Além disso, algumas citocinas contribuem para a reação inflamatória ao antígeno estranho atraindo macrófagos para o local e ativando-os.

Hipersensibilidade tardia

Reações cutâneas

Vimos que os sintomas da hipersensibilidade com frequência são apresentados na pele. Uma reação de hipersensibilidade tardia que envolve a pele é o teste cutâneo comum para tuberculose. Uma vez que o *Mycobacterium tuberculosis* geralmente está localizado dentro de macrófagos, esse organismo pode estimular uma resposta imune celular tardia. Como teste de triagem, os componentes proteicos das bactérias são injetados na pele. Se o receptor tem ou teve uma infecção pela bactéria da tuberculose, uma reação inflamatória à injeção desses antígenos aparecerá na pele em 1 a 2 dias (veja a Figura 24.11, página 686); esse intervalo é típico das reações de hipersensibilidade tardia.

A **dermatite alérgica de contato**, outra manifestação comum da hipersensibilidade tardia, geralmente é causada por haptenos que se combinam com as proteínas (principalmente o aminoácido lisina) na pele de algumas pessoas para produzir uma resposta imune. As reações à hera venenosa (**Figura 19.7**), a cosméticos e aos metais em bijuterias (principalmente o níquel) são exemplos comuns dessas alergias.

A exposição crescente ao látex em preservativos, em certos cateteres e em luvas usadas por profissionais da saúde tem resultado em uma percepção maior da hipersensibilidade ao látex. Morte por choque anafilático também pode ocorrer. Recentemente, em um período de quatro anos, 15 óbitos entre pacientes foram causados pela exposição às sondas de látex usadas para enemas ou às luvas de látex do cirurgião durante cirurgia abdo-

FOCO CLÍNICO

Um exantema tardio

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os profissionais de saúde se perguntam quando determinam a causa dos sintomas de um paciente. Tente responder cada questão antes de passar à seguinte.

1. Uma mulher de 65 anos com implantes de quadril e ombro fez uma consulta de rotina ao dentista. Ela pediu uma receita médica de cefalotina. O enfermeiro-chefe prescreveu-lhe penicilina, dizendo ser um medicamento mais barato. Por causa de seus implantes de quadril e ombro, os antibióticos eram prescritos para dois dias após qualquer intervenção odontológica.
   Por que pacientes com implantes médicos são mais suscetíveis a infecções por intervenção odontológica?
2. As bactérias orais introduzidas na corrente sanguínea durante uma intervenção odontológica podem colonizar os implantes médicos. O biofilme resultante pode ser uma fonte de infecções sistêmicas graves. A limpeza dos dentes ocorreu tranquilamente. Sete dias depois, a mulher desenvolveu exantema maculopapular nas pernas e no torso (veja a figura).
   Quais são as causas mais prováveis do exantema, na ausência de febre ou outros sinais de infecção?
3. Um exantema ocorre provavelmente devido a uma reação alérgica.
   Que perguntas você faria à paciente?
4. A paciente não havia ingerido alimento diferente, e também não havia usado agentes de limpeza ou roupas diferentes. Ela disse que a única coisa comum que havia feito nos últimos 10 dias tinha sido tomar penicilina. O enfermeiro-chefe lhe disse que essa não poderia ser a causa, pois as respostas à penicilina ocorrem em alguns minutos a horas logo após a exposição.
   O enfermeiro-chefe estava correto?
5. As reações imediatas que ocorrem em minutos a horas indicam uma alergia mediada por anticorpos. Reações tardias, como a da paciente, que ocorrem dias ou semanas depois, indicam uma reação celular do tipo IV.
   Que células são as responsáveis pela hipersensibilidade do tipo IV? Que anticorpos estão envolvidos na hipersensibilidade do tipo I?
6. Células T sensibilizadas estão envolvidas nas reações de hipersensibilidade tardias, incluindo exantemas induzidos por antibióticos. Anticorpos IgE específicos para drogas são responsáveis pelas reações de hipersensibilidade imediata do tipo I.
   O que o enfermeiro-chefe deveria ter perguntado?
7. O enfermeiro-chefe deveria ter perguntado se a paciente tinha qualquer alergia a drogas. Entretanto, neste caso, a paciente não tinha episódio anterior de alergia induzida por drogas.
   Essa foi a primeira exposição da paciente à penicilina?
8. As reações alérgicas não ocorrem na primeira exposição a um antígeno. A exposição prévia poderia ter ocorrido em alguma época da vida da paciente. Muitos imunologistas supõem que o uso excessivo da penicilina para as infecções bacterianas há 40 anos resultou em um aumento da frequência das reações alérgicas. Entretanto, a maioria dos pacientes que têm uma história de alergia à penicilina irá tolerar cefalosporinas.

minal. Muitos hospitais agora restringem até mesmo a entrada de balões de látex.

Entre médicos e enfermeiros, 5 a 12% registram esse tipo de hipersensibilidade ao uso de luvas cirúrgicas de látex (**Figura 19.8**). Várias proteínas diferentes nas borrachas naturais podem estar envolvidas, e diferentes proteínas podem causar reações imunes distintas. Luvas de látex com pouca proteína, também sem talco para minimizar aerossóis, causam menos reações adversas. Polímeros sintéticos como o vinil e, em particular, a nitrila são alternativas ao látex, mas mesmo as luvas de nitrila podem causar reações alérgicas. A maioria das luvas feitas de látex natural, assim como aquelas feitas de nitrila e neopreno, contém certos aditivos químicos chamados de aceleradores. Os aceleradores químicos promovem a ligação cruzada que auxilia na força e na elasticidade, porém têm sido associados às reações alérgicas. Um tipo de luva de nitrila que não contém aceleradores foi desenvolvido e cadastrado pela FDA (U.S. Food and Drug Administration) como dispositivo médico de Classe II, que pode ser rotulado como não alergênico.

Muitas pessoas que por alguma razão desenvolvem alergia ao látex têm também alergia a certas frutas, mais comumente o abacate, a castanha, a banana e o kiwi. A tinta látex, entretanto, não representa uma ameaça de reações de hipersensibilidade. Apesar de seu nome, ela não apresenta látex natural, mas somente polímeros químicos sintéticos não alergênicos.

A identidade do fator ambiental que causa a dermatite em geral pode ser determinada pelo *teste de contato*. Amostras de materiais suspeitos são aderidas com fitas adesivas à pele; após 48 horas, a área é examinada para identificar se houve inflamação.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a principal razão da demora em uma reação celular tardia? **19-10**

Figura 19.8 **Dermatite alérgica de contato.** A mão dessa pessoa exibe um caso grave de dermatite de contato tardia resultante do uso de luvas cirúrgicas de látex.

P **O que é dermatite alérgica de contato?**

Doenças autoimunes

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

19-11 Descrever um mecanismo de autotolerância.

19-12 Dar um exemplo de doença autoimune mediada por célula, citotóxica e imunocomplexo.

Quando a ação do sistema imune ocorre em resposta aos próprios antígenos e causa dano aos próprios órgãos de uma pessoa, o resultado é uma **doença autoimune**. Mais de 40 doenças autoimunes foram identificadas. Embora relativamente raras, elas afetam cerca de 5% da população em países desenvolvidos. Aproximadamente 75% dos casos de doenças autoimunes seletivamente afetam as mulheres. Os tratamentos para as doenças autoimunes estão melhorando à medida que o conhecimento dos mecanismos que controlam as reações imunes também aumenta.

As doenças autoimunes ocorrem quando há uma perda da **autotolerância**, a capacidade do sistema imune de discriminar entre próprio e não próprio. No modelo aceito de modo geral pelo qual as células T tornam-se capazes de diferenciar entre próprio e não próprio, as células adquirem essa capacidade durante sua passagem através do timo. Como vimos no Capítulo 17 (página 486), qualquer célula T que alcance as células hospedeiras é eliminada pela *seleção tímica* durante esse período. Isso torna improvável que a célula T ataque as células de seu próprio tecido.

Nas doenças autoimunes, a perda da autotolerância leva à produção de anticorpos ou a uma resposta por células T sensibilizadas contra os antígenos do próprio tecido de uma pessoa. As reações autoimunes, e as doenças que elas causam, podem ser naturalmente citotóxicas, por imunocomplexo ou mediadas por células.

A autoimunidade envolve anticorpos que atacam a si mesmos. Esses anticorpos podem ser produzidos em resposta a um agente infeccioso como um vírus, mas as similaridades de sequência entre as proteínas *próprias* e as proteínas virais podem fazer com que os anticorpos ataquem as células *próprias*. O vírus da hepatite C pode causar a hepatite autoimune por esse mecanismo.

Reações autoimunes citotóxicas

A doença de Graves e a miastenia grave são dois exemplos de distúrbios causados por reações autoimunes citotóxicas. Ambas as doenças envolvem reações dos anticorpos aos antígenos na superfície celular, embora não haja destruição citotóxica das células.

A **doença de Graves** é causada por anticorpos chamados de estimuladores de ação prolongada da tireoide. Esses anticorpos fixam-se aos receptores nas células da glândula tireoide, que são as células-alvo normais do hormônio estimulador da tireoide produzido pela glândula pituitária. O resultado é a estimulação da glândula tireoide para que produza maiores quantidades dos hormônios da tireoide e assim se torne muito volumosa. Os sinais mais notáveis da doença são o bócio (um inchaço deformante da glândula tireoide) e olhos fixos e salientes.

A **miastenia grave** é uma doença na qual os músculos se tornam progressivamente mais fracos. Ela é causada por anticorpos que recobrem os receptores de acetilcolina nas junções em que os impulsos nervosos encontram os músculos. Finalmente, os músculos que controlam o diafragma e a cavidade torácica podem falhar em receber os sinais nervosos necessários, contendo a respiração e resultando em morte.

Reações autoimunes por imunocomplexos

O **lúpus eritematoso sistêmico** é uma doença autoimune sistêmica envolvendo as reações por imunocomplexos e que afeta principalmente as mulheres. A etiologia da doença não é inteiramente compreendida, mas as pessoas afetadas produzem anticorpos dirigidos contra os componentes de suas próprias células, incluindo o DNA, que é provavelmente liberado durante o mau funcionamento do tecido, em particular a pele. Os efeitos mais prejudiciais da doença resultam do depósito de imunocomplexos nos glomérulos renais.

A **artrite reumatoide** incapacitante é uma doença na qual os imunocomplexos de IgM, IgG e complemento são depositados nas articulações. De fato, os imunocomplexos chamados de *fatores reumatoides* podem ser formados pela ligação da IgM à região Fc da IgG normal. Esses fatores são encontrados em 70% das pessoas que sofrem de artrite reumatoide. A inflamação crônica causada por essa deposição resulta finalmente em danos graves à cartilagem e aos ossos articulares.

Reações autoimunes mediadas por células

A **esclerose múltipla** é uma das doenças autoimunes mais comuns, afetando principalmente adultos jovens. A maioria das pessoas com esclerose múltipla é de brancos que vivem na latitude norte;

as mulheres apresentam duas vezes mais chances de desenvolver a doença. Trata-se de uma doença neurológica em que as células T e os macrófagos atacam a bainha de mielina dos nervos. Os sintomas variam desde fadiga e fraqueza a, em alguns casos, paralisia grave. A doença progride lentamente ao longo de vários anos. Novos ataques que agravam a condição costumam ser intercalados por longos períodos de remissão. Há evidência considerável de suscetibilidade genética, provavelmente não de um único gene, mas de vários genes que interagem. A etiologia da esclerose múltipla é desconhecida, mas evidências epidemiológicas indicam que provavelmente envolve algum agente infectivo ou agentes adquiridos no início da adolescência. O vírus Epstein-Barr (página 391) frequentemente é mencionado como o principal suspeito. Não existe cura, porém tratamentos com interferons e várias drogas que interferem com os processos imunes podem desacelerar significativamente a progressão dos sintomas.

O **diabetes melito dependente de insulina** é um distúrbio bem conhecido causado pela destruição imunológica das células secretoras de insulina do pâncreas. As células T estão claramente envolvidas nessa doença; os animais com tendência genética a desenvolver o diabetes não o fazem quando seu timo é removido na infância.

A **psoríase**, condição clínica cutânea bastante comum, é um distúrbio autoimune caracterizado por manchas avermelhadas da pele espessa. Cerca de 25% dos pacientes desenvolvem **artrite psoriática**. Várias terapias tópicas e sistêmicas como corticosteroides e metotrexato estão disponíveis para ajudar a controlar a psoríase da pele. A psoríase é considerada uma doença T_H1 e pode ser tratada de maneira eficaz com imunossupressores que atingem as células T e, em particular, a citocina TNF-α (veja a página 460), um importante fator na inflamação. Para a artrite psoriática, assim como para a artrite reumatoide, os tratamentos mais eficazes são as injeções de anticorpos monoclonais, que inibem o TNF-α. Veja o quadro no Capítulo 17, página 493, para outro tratamento novo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Qual a importância da deleção clonal no timo? **19-11**

✔ Que órgão é afetado na doença de Graves? **19-12**

Reações relacionadas ao complexo do antígeno leucocitário humano (HLA)

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

19-13 Definir *complexo HLA* e explicar sua importância na suscetibilidade às doenças e nos transplantes de tecidos.

19-14 Explicar como um transplante é rejeitado.

19-15 Definir *sítio privilegiado*.

19-16 Discutir o papel das células-tronco nos transplantes.

19-17 Definir *autoenxerto*, *isoenxerto*, *aloenxerto* e *xenoenxerto*.

19-18 Explicar como ocorre a doença enxerto-*versus*-hospedeiro.

19-19 Explicar como a rejeição de um transplante pode ser prevenida.

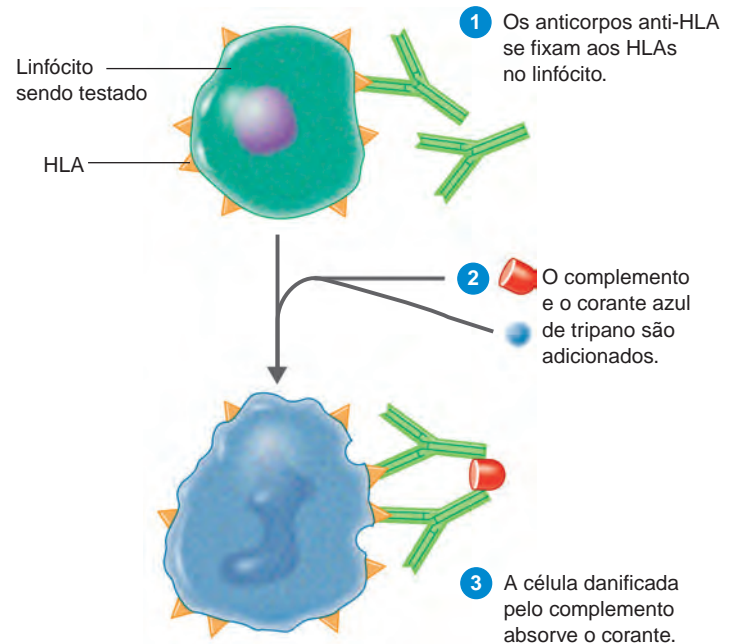



Figura 19.9 Tipagem de tecido, um método sorológico. Os linfócitos da pessoa sendo testada são incubados com os anticorpos anti-HLA (de estoques laboratoriais) específicos para um HLA em particular. Se os anticorpos reagirem com os antígenos em um linfócito, então o complemento danifica o linfócito, e o corante penetra na célula. Esse resultado positivo do teste indica que a pessoa tem o HLA específico sendo testado.

P Por que é feita a tipagem de tecido?

As características genéticas hereditárias das pessoas são expressas não somente na cor de seus olhos e na forma de seus cabelos, mas também na composição das moléculas próprias em suas superfícies celulares. Algumas dessas moléculas são chamadas de **antígenos de histocompatibilidade**. Os genes que controlam a produção das moléculas próprias mais importantes são conhecidos como **complexo principal de histocompatibilidade** (**MHC**, de *major histocompatibility complex*). Em seres humanos, esses genes são chamados de **complexo de antígeno leucocitário humano** (**HLA**, de *human leucocyte antigen*). Encontramos essas moléculas próprias no Capítulo 17 (página 482), aonde vimos que grande parte dos antígenos pode estimular uma reação imune somente se estiverem associados a uma molécula de MHC.

Um processo chamado de *tipagem* do *HLA* é utilizado para identificar e comparar os HLAs. Certos HLAs estão relacionados a uma suscetibilidade aumentada a doenças específicas; uma aplicação médica da tipagem do HLA é identificar essa suscetibilidade. Algumas dessas relações estão resumidas na **Tabela 19.3**.

Outra importante aplicação médica da tipagem do HLA é nas cirurgias de transplantes, em que o doador e o receptor devem ser compatíveis por *tipagem de tecido*. A técnica sorológica mostrada na **Figura 19.9** é uma das mais utilizadas. Na tipagem sorológica

Tabela 19.3 Doenças relacionadas a antígenos leucocitários humanos (HLAs) específicos

Doença	Risco aumentado de ocorrência com HLA específico*	Descrição
Doenças inflamatórias		
Esclerose múltipla	5 vezes	Doença inflamatória progressiva que afeta o sistema nervoso
Febre reumática	4-5 vezes	Reação cruzada com anticorpos contra antígenos estreptocócicos
Doenças endócrinas		
Doença de Addison	4-10 vezes	Deficiência na produção de hormônios pela glândula adrenal
Doença de Graves	10-12 vezes	Anticorpos fixados a certos receptores na glândula tireoide causam o aumento da glândula e a produção de hormônios em excesso
Doenças malignas		
Linfoma de Hodgkin	1,4-1,8 vezes	Câncer dos linfonodos

*Comparado à população em geral.

de tecido, o laboratório usa antissoro padronizado ou anticorpos monoclonais que são específicos para HLAs particulares.

Uma técnica promissora para análise do HLA é o uso da *reação em cadeia da polimerase* (*PCR*, de *polymerase chain reaction*) para amplificar o DNA da célula (veja a Figura 9.4, página 252). Se isso for feito para ambos, doador e receptor, a compatibilidade entre o DNA do doador e o DNA do receptor pode então ser analisada. Havendo essa compatibilidade do DNA e a compatibilidade do tipo sanguíneo ABO entre doador e receptor, deve haver uma taxa de sucesso muito maior na cirurgia de transplantes.

Entretanto, outros fatores podem estar envolvidos no sucesso de um transplante. No Capítulo 17, apresentamos brevemente a hipótese de que a reação do organismo ao tecido estranho transplantado pode ser uma resposta a células danificadas durante a cirurgia. Em outras palavras, a rejeição ao tecido pode resultar de uma reação aprendida de um sinal de perigo exposto pelas células danificadas, em vez de uma reação aprendida ao não próprio.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a relação entre o complexo principal de histocompatibilidade em humanos e o complexo de antígeno leucocitário humano? **19-13**

Reações aos transplantes

Na Itália do século XVI, os crimes geralmente eram punidos com o corte do nariz do criminoso. Um cirurgião da época, em suas tentativas de reparar essa mutilação, observou que, se a pele era tirada do paciente, cicatrizava bem, mas se era tirada de outra pessoa, isso não ocorria.

Hoje conhecemos os princípios relativos a esse fenômeno. Os transplantes reconhecidos como não próprios são rejeitados – atacados por células T que causam diretamente a lise das células enxertadas, por macrófagos ativados por células T e, em certos casos, por anticorpos, que ativam o sistema complemento e danificam os vasos sanguíneos que nutrem o tecido transplantado. Entretanto, os transplantes que não são rejeitados podem acrescentar muitos anos de vida saudável a uma pessoa.

Desde o primeiro transplante de rim realizado em 1954, esse tipo específico de transplante tornou-se um procedimento médico quase rotineiro. Outros tipos de transplantes que agora são possíveis incluem os de medula óssea, pulmões, coração, fígado e córnea. Os tecidos e os órgãos para transplante em geral são obtidos de pessoas falecidas recentemente, embora um de um par de órgãos, como um rim, possa vir de um doador vivo. Um doador pode doar também até metade de seu fígado sadio.

Sítios e tecidos privilegiados

Alguns transplantes ou enxertos não estimulam uma resposta imune. Uma córnea transplantada, por exemplo, raramente é rejeitada, em especial porque os anticorpos geralmente não circulam nessa porção do olho, que é considerada um **sítio privilegiado**. (Entretanto, rejeições ocorrem, em particular quando a córnea tiver desenvolvido muitos vasos sanguíneos resultantes de infecções ou lesões corneanas.) O cérebro também é um sítio privilegiado, provavelmente porque não apresenta vasos linfáticos e porque as paredes dos vasos sanguíneos no cérebro são diferentes das paredes dos vasos sanguíneos em qualquer outra parte do corpo (a barreira hematoencefálica é discutida no Capítulo 22). Algum dia talvez seja possível enxertar nervos estranhos para substituir nervos no cérebro e na medula espinal.

Compreende-se apenas em parte como os animais toleram a gestação sem rejeitar o feto. Durante a gravidez, os tecidos de dois indivíduos geneticamente diferentes estão em contato direto. Um fator importante parece ser que os MHCs de classe I e II nas células que formam a camada externa da placenta, e que estão em contato com o tecido materno, não são os tipos específicos que estimulam uma resposta imune celular. O feto também é protegido por certas proteínas que ele sintetiza, as quais apresentam propriedades imunossupressoras. Contudo, não há uma única e simples explicação.

É possível transplantar um **tecido privilegiado** que não estimula uma rejeição imune. Um exemplo é a substituição da válvula cardíaca danificada de uma pessoa por uma válvula cardíaca de coração de porco. Entretanto, sítios e tecidos privilegiados são mais exceção do que regra.

Células-tronco

Um desenvolvimento que promete transformar transplantes é o uso de **células-tronco** (veja a Figura 17.8, página 486), células-mestre capazes de gerar qualquer um dos tipos celulares que formam o organismo. O interesse maior está nas **células-tronco embrionárias** (**ESCs**, de *embryonic stem cells*). Essas células podem ser isoladas do estágio inicial de um embrião, geralmente de embriões descartados das tentativas de geração em fertilizações *in vitro*. As ESCs são *pluripotentes*, o que significa que são capazes de gerar muitos tipos diferentes de células teciduais. A **Figura 19.10** mostra como essas células são obtidas do estágio de blastocisto, uma bola oca de 100 a 150 células indiferenciadas que se forma poucos dias depois do ovo ser fertilizado. Quando cultivadas, as ESCs podem ser induzidas a produzir linhagens celulares diferentes, como musculares, nervosas e sanguíneas.

Na comunidade médica há um grande interesse em utilizar as ESCs em terapias. Por exemplo, em teoria essas células poderiam ser usadas para regenerar tecido cardíaco danificado ou células do pâncreas que falham em produzir insulina, o que leva ao diabetes. A cartilagem traumatizada das articulações de pacientes com artrite reumatoide poderia ser substituída. Condições neurológicas como doença de Parkinson ou paralisia resultante de trauma também poderiam ser tratadas. Há até mesmo a perspectiva do crescimento de novos órgãos completos. Em alguns exemplos, o doador original poderia ser o receptor, assegurando a compatibilidade genética dos tecidos. Felizmente, as ESCs humanas parecem expressar poucos antígenos de MHC de classe I e nenhum antígeno de MHC de classe II. Isso ajuda no problema da rejeição imune, porém não o resolve. De qualquer modo, os pesquisadores querem criar células pluripotentes que sejam geneticamente compatíveis com o paciente ou que de outra maneira escapem da rejeição imune.

Uma vez que as ESCs são derivadas de embriões, até mesmo em seu estágio microscópico, muitas pessoas são contrárias ao seu uso. Alternativas possíveis são as *células-tronco adultas* (*ASCs*, de *adult stem cells*), que existem em alguns tecidos como o sangue e a pele. Esses tecidos produzem poucos tipos celulares diferentes, na maior parte o tipo de tecido de origem, e são difíceis de cultivar. Um novo caminho promissor das pesquisas é reprogramar geneticamente as ASCs pelo uso de vírus para inserir genes nas células da pele, ou de outras células adultas, para convertê-las em *células-tronco pluripotentes induzidas* (*iPS*, de *induced pluripotent stem cells*). Outras fontes não embrionárias de células-tronco são as células do sangue do cordão umbilical, consideradas ASCs, obtidas de cordões umbilicais. Elas são as *células-tronco hematopoiéticas* (*HSCs*, de *hematopoietic stem cells*) progenitoras das células sanguíneas e linfoides (sistema imune). Os transplantes de medula óssea (veja a página 536) são uma forma de transplante de célula-tronco, principalmente as HSCs.

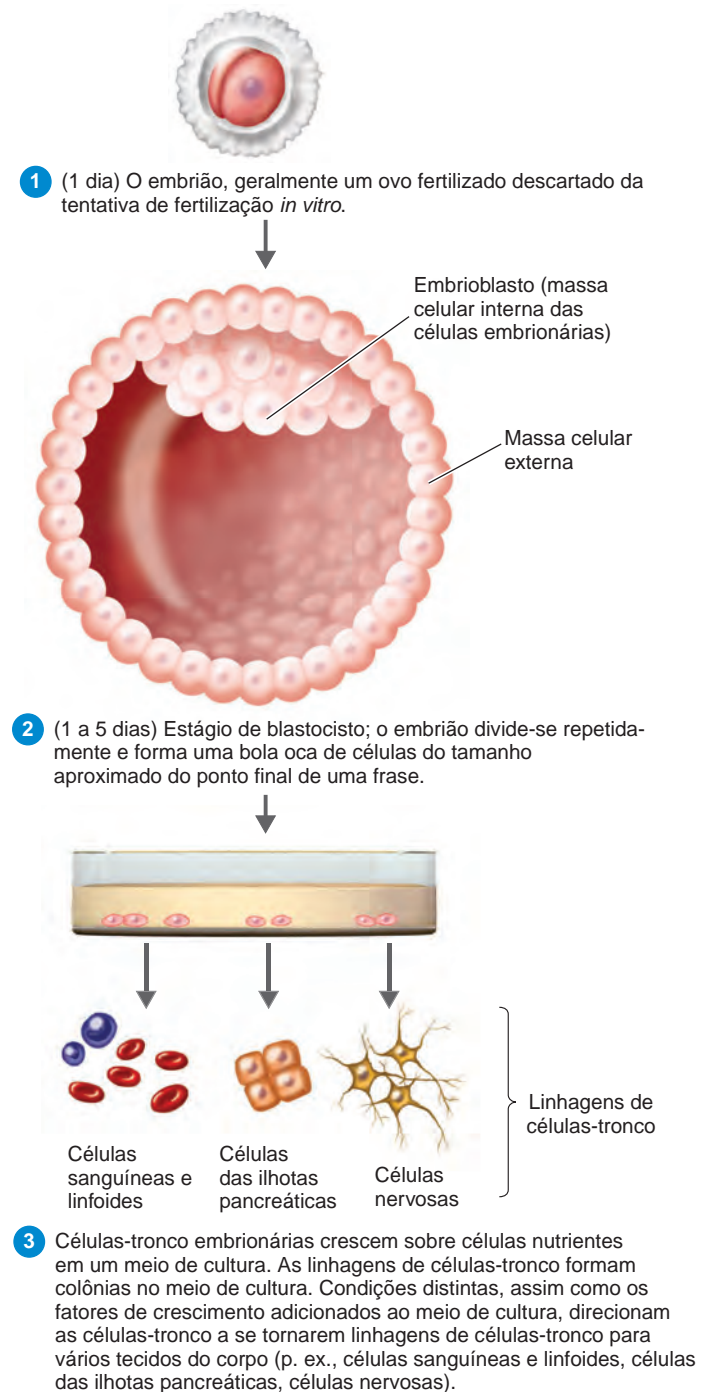



Figura 19.10 **Origem das células-tronco embrionárias.**

P O que significa *pluripotente*?

Enxertos

Quando o tecido de uma pessoa é enxertado em outra parte do corpo, como é feito nos tratamentos de queimadura ou em cirurgia plástica, o enxerto não é rejeitado. Tecnologias recentes têm possibilitado o uso de algumas células cutâneas íntegras de um paciente

com queimadura para cultivos de camadas extensas de pele nova. Essa pele nova é um exemplo de **autoenxerto**. Gêmeos idênticos apresentam a mesma constituição genética; portanto, a pele ou órgãos como os rins podem ser transplantados entre eles sem provocar uma resposta imune. Esse transplante é chamado de **isoenxerto**.

A maioria dos transplantes, entretanto, é feita entre pessoas que não são gêmeos idênticos, e esses transplantes desencadeiam uma resposta imune. Tentativas são feitas para combinar o máximo possível os HLAs do doador e do receptor de modo a reduzir as chances de rejeição. Uma vez que os HLAs de parentes próximos são os mais prováveis de se combinar, os parentes consanguíneos, em particular irmãos, são os doadores preferidos. Os enxertos entre pessoas que não são gêmeos idênticos são chamados de **aloenxertos**.

Devido à escassez de órgãos disponíveis, pesquisadores médicos esperam aumentar o sucesso dos **produtos para xenotransplantes** (antigamente chamados de **xenoenxertos**), que são tecidos ou órgãos que foram transplantados de animais. Entretanto, o corpo tende a montar um ataque imune especialmente grave contra esses transplantes. Tentativas insatisfatórias têm sido feitas para usar órgãos de babuínos e outros primatas não humanos. Existe grande interesse nas pesquisas de porcos geneticamente modificados – um animal que é encontrado em grande quantidade, do tamanho apropriado e que gera relativamente pouca simpatia pública – para torná-los doadores de órgãos aceitáveis. A principal preocupação com os produtos para xenotransplantes é a possibilidade da transferência de vírus animais nocivos.

Estudos preliminares estão em andamento e poderão finalmente permitir que alguns ossos e órgãos sejam produzidos a partir das células teciduais do próprio hospedeiro.

Para serem bem-sucedidos, os produtos para xenotransplantes devem superar a **rejeição hiperaguda**, resultante do desenvolvimento, no início da infância, de anticorpos contra todos os animais com relação distante, como os porcos. Com a ajuda do complemento, esses anticorpos atacam o tecido animal transplantado e o destroem dentro de uma hora. A rejeição hiperaguda ocorre em transplantes entre seres humanos somente quando os anticorpos foram pré-formados por causa de transfusões, transplantes ou gestações anteriores. O transplante de fígado entre os seres humanos é incomum em um aspecto: esse órgão geralmente resiste à rejeição hiperaguda, e a tipagem do HLA não é tão importante quanto a de outros tipos de tecido.

Transplantes de medula óssea

Os transplantes de medula óssea frequentemente estão nos noticiários. Os receptores em geral são pessoas que não têm a capacidade de produzir células B ou células T, vitais para a imunidade, ou que apresentam leucemia. Lembre-se do Capítulo 17 que as células-tronco da medula óssea originam as hemácias e os linfócitos do sistema imune. O objetivo dos transplantes de medula óssea é permitir que o receptor produza hemácias ou células do sistema imune saudáveis. Entretanto, esses transplantes podem resultar na **doença enxerto-*versus*-hospedeiro** (**GVH**, de *graft-versus-host*). A medula óssea transplantada apresenta células imunocompetentes que produzem principalmente uma resposta imune celular contra o tecido no qual foram transplantadas. Uma vez que o receptor não têm uma imunidade eficaz, a doença GVH é uma complicação grave que pode até ser fatal.

Uma técnica muito promissora para evitar esse problema é o uso de *sangue do cordão umbilical* em vez de medula óssea. Esse sangue é obtido da placenta e do cordão umbilical de recém-nascidos, material que de outra maneira seria descartado. Ele é bastante rico em células-tronco encontradas na medula óssea. Essas células não somente proliferam em uma variedade de células necessárias pelo receptor, mas também, como as células-tronco dessa fonte são mais novas e menos maduras, os requerimentos para a compatibilidade também são menos rigorosos que na medula óssea. Consequentemente, é pouco provável que a doença GVH ocorra.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Que células do sistema imune estão envolvidas na rejeição de transplantes do não próprio? **19-14**
- ✓ Por que uma córnea transplantada geralmente não é rejeitada como não própria? **19-15**
- ✓ Diferencie uma célula-tronco embrionária e uma célula-tronco adulta. **19-16**
- ✓ Que tipo de transplante está mais sujeito à rejeição hiperaguda? **19-17**
- ✓ Quando a medula óssea é transplantada, muitas células imunocompetentes estão presentes. Como isso pode ser ruim? **19-18**

Imunossupressão

Para manter o problema da rejeição a transplantes em perspectiva, é importante lembrar que o sistema imune está simplesmente fazendo o seu trabalho e não há um modo de reconhecer que o seu ataque contra o transplante não é útil. Em uma tentativa de impedir a rejeição, o receptor de um aloenxerto geralmente recebe tratamento para suprimir essa resposta imune normal contra o enxerto.

Nas cirurgias de transplantes, geralmente deseja-se suprimir a imunidade celular, o fator mais importante na rejeição ao transplante. Se a imunidade humoral (baseada em anticorpos) não for suprimida, muito dessa capacidade de resistir à infecção microbiana irá persistir. Em 1976, a droga *ciclosporina* foi isolada de um bolor. O transplante bem-sucedido de órgãos como corações e fígados ocorreu após a descoberta da ciclosporina. Ela suprime a secreção de interleucina-2 (IL-2), interrompendo a imunidade celular das células T citotóxicas. Após o sucesso dessa droga, surgiram logo em seguida outros imunossupressores. O *tacrolimus* (FK506) tem um mecanismo semelhante ao da ciclosporina e é uma alternativa frequente, embora ambos apresentem graves efeitos colaterais. Nem a ciclosporina nem o tacrolimus tem muito efeito sobre a produção de anticorpos pelo sistema imune humoral. Ambas as drogas continuam sendo usadas na maioria dos métodos para prevenir a rejeição aos transplantes. Algumas drogas mais recentes, como o *sirolimus* (Rapamune), estão entre aquelas que inibem a imunida-

(a) O CTL pequeno já fez uma perfuração na célula cancerosa.

(b) A célula cancerosa se desintegra.

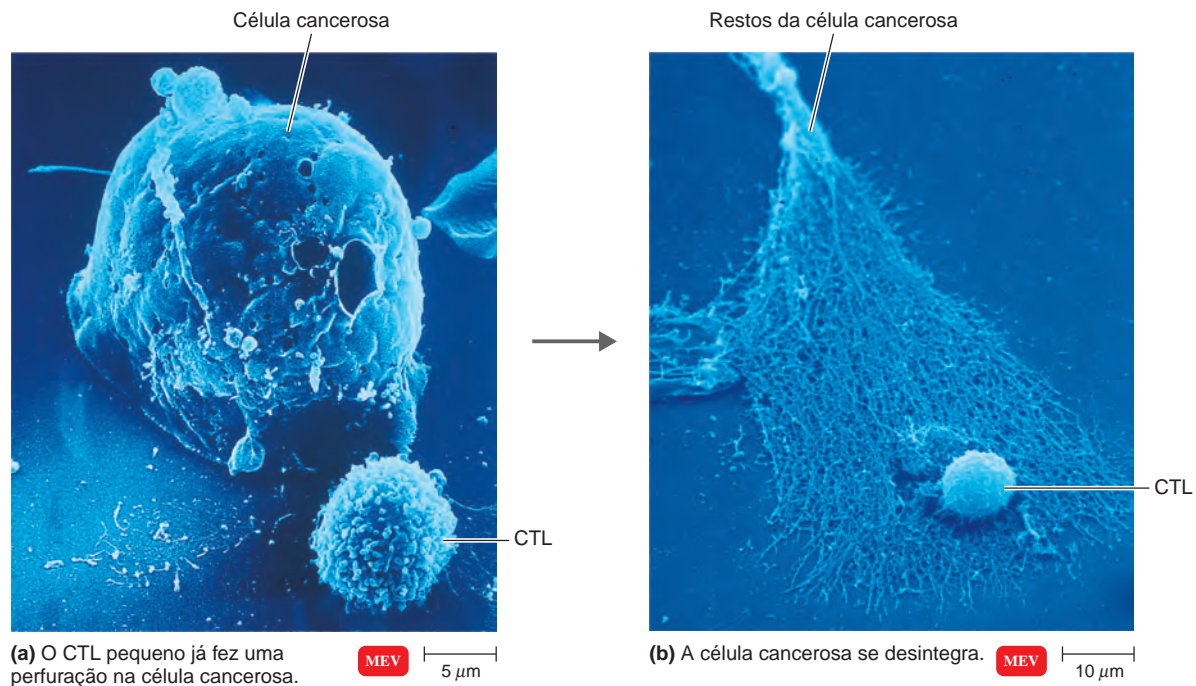



Figura 19.11 Interação entre um linfócito T citotóxico e uma célula cancerosa.

P Os CTLs podem causar a lise de células cancerosas. Como fazem isso? (*Dica*: veja a Figura 17.10.)

de celular e a imunidade humoral. Essa pode ser uma vantagem se a rejeição crônica ou hiperaguda por anticorpos estiver sendo considerada. O sirolimus é conhecido por seu uso em *stents*, redes cilíndricas desenvolvidas para manter os vasos sanguíneos abertos após a remoção de coágulos. Drogas como o *micofenolato de mofetil* inibem a proliferação de células T e B. Alguns agentes biológicos como os anticorpos monoclonais quiméricos (página 509) *basiliximab* e *daclizumab* (Zenapax) também bloqueiam a IL-2 e são imunossupressores úteis. Os agentes imunossupressores geralmente são administrados em combinações.

Uma observação interessante é que ocasionalmente um receptor transplantado interrompe o uso de drogas imunossupressoras, porém não rejeita o transplante. As razões para isso são incertas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que citocina geralmente é o alvo das drogas imunossupressoras com a intenção de impedir a rejeição ao transplante? **19-19**

O sistema imune e o câncer

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

19-20 Descrever como o sistema imune responde ao câncer e como as células escapam das respostas imunes.

19-21 Dê dois exemplos de imunoterapia.

Assim como uma doença infecciosa, o câncer representa uma falha das defesas do organismo, incluindo o sistema imune. Alguns dos caminhos mais promissores para uma terapia eficaz do câncer fazem uso de técnicas imunológicas.

Há quase 100 anos já se reconhecia que as células cancerosas frequentemente crescem no organismo e que em geral são eliminadas pelo sistema imune muito mais que qualquer outra célula invasora – o conceito de **vigilância imunológica**. Postulava-se que o sistema imune celular provavelmente tenha surgido para combater as células cancerosas e que um crescimento canceroso representava uma falha do sistema. Esse conceito é amparado pela observação de que o câncer ocorre com mais frequência em adultos mais velhos, cujo sistema imune está se tornando menos eficiente, ou em muito jovens, cujo sistema imune não tenha se desenvolvido completa ou adequadamente. Além disso, indivíduos imunossuprimidos por meio natural ou artificial são mais suscetíveis a certos tipos de câncer.

Uma célula se torna cancerosa quando sofre transformação e começa a se proliferar sem controle (veja o Capítulo 13, página 389). As superfícies das células tumorais adquirem antígenos associados aos tumores, que as marcam como não próprias do sistema imune. A **Figura 19.11** ilustra o ataque de células T_C a uma célula cancerosa (linfócitos T citotóxicos, ou CTLs, de *cytotoxic T lymphocytes*). Macrófagos ativados também podem destruir células cancerosas. Embora um sistema imune saudável sirva para prevenir a maioria dos cânceres, ele apresenta limitações. Em alguns casos,

não há epítopo antigênico que seja alvo do sistema imune. As células tumorais podem até mesmo se reproduzir tão rapidamente que excedem a capacidade do sistema imune de lidar com elas. Finalmente, se a célula tumoral começa a se reproduzir nos tecidos e se torna vascularizada (conectada ao suprimento sanguíneo do organismo), em geral torna-se invisível ao sistema imune.

Imunoterapia do câncer

A hipótese de que o câncer representa uma falha do sistema imune tem levado ao pensamento de que o sistema poderia ser usado para prevenir ou curar o câncer – isto é, **imunoterapia**.

Na virada do século XX, William B. Coley, um médico de um hospital de Nova Iorque, observou que, se os pacientes com câncer contraíssem febre tifoide, seus cânceres muitas vezes diminuíam de um modo impressionante. Após essa descoberta, Coley fez misturas de bactérias de estreptococos mortos (gram-positivos) e *Serratia marcescens* (gram-negativa). Essas misturas, conhecidas como toxinas de Coley, foram injetadas nos pacientes com câncer para estimular uma infecção bacteriana. Parte desse trabalho era bastante promissora, mas seus resultados eram inconsistentes, e os avanços nos tratamentos cirúrgicos e por radiação deixaram-no quase no esquecimento. Sabemos hoje que as endotoxinas dessas bactérias são estimulantes potentes para a produção do fator de necrose tumoral (TNF, de *tumor necrosis factor*) pelos macrófagos. O TNF é uma pequena proteína que interfere com o suprimento sanguíneo dos tumores em animais.

Outra pesquisa determinou há muitos anos que, se animais fossem injetados com células tumorais mortas, como se fosse uma vacina, não desenvolveriam tumores quando injetados com células vivas provenientes desses tumores. De modo semelhante, os cânceres algumas vezes sofrem remissão espontânea, provavelmente relacionada à vantagem ganha pelo sistema imune. Tratar ou prevenir o câncer pelos meios imunológicos será uma abordagem importante no futuro. Um aspecto atraente dessa abordagem é que ela evita o dano às células sadias causado pelos tratamentos quimioterápicos e por radiação. Já existe uma vacina bem-sucedida para a doença de Marek, um câncer que acomete galinhas. As vacinas para proteger os gatos da leucemia felina também têm proporcionado proteção considerável.

As vacinas contra o câncer poderiam ser tanto *terapêuticas* (utilizadas para tratar cânceres já existentes) quanto *profiláticas* (utilizadas para prevenir o desenvolvimento do câncer). De fato, as vacinas profiláticas já existem. O vírus da hepatite B é uma causa comum do câncer de fígado, e uma vacina contra a infecção por esse vírus é amplamente utilizada. Uma vacina recomendada para meninas novas, Gardasil, reduz ao mínimo a chance de desenvolvimento de câncer cervical futuro causado por linhagens de um vírus que também causa verrugas genitais.

Embora trabalhos com vacinas potenciais contra o câncer estejam em desenvolvimento já há quase um século, essa é uma área que está apenas em seu estágio inicial. Atualmente, uma vacina contra o câncer provavelmente seria mais útil em prevenir recorrências depois de outras formas de tratamento, pois o sistema imune lidaria com um número menor de células.

Os anticorpos monoclonais são uma ferramenta promissora para o tratamento do câncer. Um anticorpo monoclonal humanizado, *Herceptina* (veja o Capítulo 18, página 509), está sendo utilizado atualmente para tratar uma forma de câncer de mama. A Herceptina neutraliza especificamente um fator de crescimento geneticamente determinado, o HER2, que promove a proliferação das células cancerosas. Ele é expresso em quantidades relativamente altas em cerca de 25 a 30% dos pacientes com câncer de mama.

Outra abordagem é combinar um anticorpo monoclonal com um agente tóxico, formando uma **imunotoxina**. Em teoria, uma imunotoxina poderia ser usada para atingir e matar especificamente células de um tumor, causando pouco dano às células sadias. Existem alguns resultados promissores nos ensaios clínicos, mas não com grandes massas de tumores nas quais muitas dessas células tumorais não podem ser atingidas pela imunotoxina.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Qual é a função dos antígenos associados a tumor no desenvolvimento do câncer? **19-20**
- ✓ Dê um exemplo de uma vacina profilática contra o câncer que está em uso atualmente. **19-21**

Imunodeficiências

OBJETIVO DO APRENDIZADO

19-22 Comparar e contrastar imunodeficiências congênitas e adquiridas.

A ausência de uma resposta imunológica suficiente é chamada de **imunodeficiência**, podendo ser congênita ou adquirida.

Imunodeficiências congênitas

Algumas pessoas nascem com um sistema imune defeituoso. Os defeitos, ou a ausência, de uma série de genes herdados podem resultar em **imunodeficiências congênitas**. Por exemplo, indivíduos com uma certa característica recessiva, a síndrome de DiGeorge, não apresentam o timo e, portanto, não possuem imunidade celular. Um animal equivalente, que é extremamente valioso para as pesquisas sobre transplantes, é o camundongo *nude** (**Figura 19.12**). Esses camundongos não têm o timo (a coincidente falta de pelos é controlada pelo mesmo gene) e, portanto, não produzem células T e não rejeitam tecido transplantado. Até mesmo a pele de galinha, completa com as penas, é prontamente aceita como um enxerto.

Imunodeficiências adquiridas

Uma variedade de drogas, cânceres ou agentes infecciosos pode causar **imunodeficiências adquiridas**. Por exemplo, a doença de Hodgkin (um tipo de câncer) reduz a resposta celular. Muitos vírus são capazes de infectar e matar os linfócitos, reduzindo a resposta imune. A remoção do baço diminui a imunidade humoral. A **Tabela 19.4** resume várias das condições imunodeficientes mais conhecidas, incluindo a Aids.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ A Aids é uma imunodeficiência adquirida ou congênita? **19-22**

* N. de T. O termo, que significa "sem pelos" ou "simplesmente nu", é utilizado sem tradução pela literatura técnico-científica em português.

Figura 19.12 Um camundongo *nude* (sem pelos) infectado com *Mycobacterium leprae* na pata traseira. Camundongos *nude* não têm o timo e, portanto, não possuem imunidade celular. A resposta imune à infecção pelo *M. leprae* (patógeno da lepra) depende da imunidade celular, de modo que esses animais têm um importante papel nas pesquisas sobre a lepra.

P Qual é o papel do timo na imunidade?

Síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids)

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

19-23 Dar dois exemplos de como emergem as doenças infecciosas.

19-24 Explicar a fixação do HIV a uma célula hospedeira.

19-25 Listar dois modos pelo qual o HIV escapa dos anticorpos do hospedeiro.

19-26 Descrever os estágios da infecção pelo HIV.

19-27 Descrever os efeitos da infecção pelo HIV sobre o sistema imune.

19-28 Descrever como a infecção pelo HIV é diagnosticada.

19-29 Listar as vias de transmissão do HIV.

19-30 Identificar os padrões geográficos da transmissão do HIV.

19-31 Listar os métodos de prevenção e tratamento atuais da infecção pelo HIV.

Em 1981, um grupo de casos de pneumonia por *Pneumocystis* (veja a página 21) ocorreu na região de Los Angeles, Estados Unidos. Essa doença extremamente rara em geral ocorria apenas em indivíduos imunossuprimidos. Os investigadores logo correlacionaram o surgimento dessa doença com uma incidência incomum de uma forma rara de câncer de pele e vasos sanguíneos, chamada de sarcoma de Kaposi. As pessoas afetadas eram todas homens jovens homossexuais, e todos apresentavam uma perda da função imune. Em 1983, o patógeno causador da perda da função imune foi identificado como um vírus que seletivamente infecta as células T auxi-

Tabela 19.4 Imunodeficiências

Doença	Células afetadas	Comentários
Síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids)	O vírus destrói as células T $CD4^+$	Favorece o câncer e as doenças bacterianas, virais, fúngicas e parasitárias
Imunodeficiência seletiva de IgA	Células B e T	Afeta aproximadamente 1 em 700, causando infecções mucosas frequentes; a causa específica é incerta
Hipogamaglobulinemia comum variável	Células B e T (diminuição das imunoglobulinas)	Infecções virais e bacterianas frequentes; segunda imunodeficiência mais comum, afetando aproximadamente 1 em 70.000; hereditária
Disgenesia reticular	Células B, T e tronco (uma imunodeficiência combinada; deficiências em células B, T e neutrófilos)	Geralmente fatal no início da infância; muito rara; hereditária; transplante de medula óssea como um possível tratamento
Imunodeficiência combinada grave	Células B, T e tronco (deficiência de ambas as células B e T)	Afeta aproximadamente 1 em 100.000; favorece infecções graves; hereditária; tratada com transplantes de medula óssea e timo fetal; tratamento com terapia gênica é promissor
Aplasia tímica (síndrome de DiGeorge)	Células T (o timo defeituoso causa a deficiência de células T)	Ausência de imunidade celular; geralmente fatal na infância devido à pneumonia por *Pneumocystis* ou infecções virais ou fúngicas; devido à falha no desenvolvimento do timo no embrião
Síndrome de Wiskott-Aldrich	Células B e T (poucas plaquetas no sangue, células T anormais)	Infecções frequentes por vírus, fungos, protozoários; eczema, coagulação sanguínea defeituosa; geralmente causa morte na infância; herdada no cromossomo X
Agamaglobulinemia infantil ligada ao cromossomo X (de Bruton)	Células B (redução das imunoglobulinas)	Infecções frequentes por bactérias extracelulares; afeta aproximadamente 1 em 200.000; a primeira imunodeficiência reconhecida (1952); herdada no cromossomo X

Estrutura do HIV e infecção de uma célula T CD4+. A cabeça da glicoproteína gp120 na membrana fixa-se a um receptor na célula CD4+. A glicoproteína transmembrana gp41 provavelmente facilita a fusão pela fixação a um receptor de fusão erguido na célula CD4+.

1 **Fixação.** A espícula gp120 fixa-se ao um receptor e a um co-receptor CCR5 ou CXCR4 na célula.

2 **Fusão.** A gp41 participa na fusão do HIV com a célula.

3 **Entrada.** Após a fusão com a célula, um poro de entrada é criado. Após a entrada, o envelope viral fica para trás e o HIV é descoberto, liberando o RNA do centro (veja a Figura 19.14b) para direcionar a síntese de novos vírus.

Figura 19.13 Estrutura do HIV e fixação a receptores na célula T alvo.

P Por que o HIV infecta preferencialmente as células T CD4+?

liares. Hoje, esse vírus é conhecido como vírus da imunodeficiência humana, ou HIV (veja a Figura 1.1e, página 5).

A origem da Aids

Acredita-se hoje que o HIV tenha se originado da mutação de um vírus que foi endêmico na vida selvagem em algumas regiões da África Central. Estudos genéticos do vírus levaram à conclusão de que o HIV-2 (um tipo de HIV pouco contagioso e geralmente não encontrado fora da África Ocidental) é uma mutação do vírus da imunodeficiência de símios (SIV, de *simian immunodeficiency virus*). Macacos mangabey da África Ocidental são infectados com o SIV de modo natural e inofensivo. Mais recentemente, estudos mostram que o HIV-1 (o principal HIV encontrado mundialmente em seres humanos) está geneticamente relacionado com outro SIV, portado por chimpanzés da África Central.

Aparentemente, essas infecções por SIV passaram relativamente há pouco tempo (no século XX) para a população humana, conhecida por comer carne de animais selvagens. Modelos matemáticos da suposta evolução do HIV, por Bette Korber, do Laboratório Nacional de Los Alamos, Estados Unidos, estimam que o vírus provavelmente tenha feito transição para os seres humanos em 1930. A doença pode ter estado latente, sem que pudesse ser notada, tendo em vista que a transmissão estava limitada a pequenos povoados onde as taxas de promiscuidade sexual eram baixas. O vírus não poderia ter matado ou incapacitado seus hospedeiros rapidamente; do contrário, não teria sido mantido na população do povoado. Com o final repentino do colonialismo europeu, a estrutura social da África subsaariana foi rompida. A população se tornou urbanizada; os desenvolvimentos que resultam da urbanização e contribuem para o aumento da promiscuidade sexual, como o aumento da prostituição e do uso de transportes de vias expressas, são considerados os responsáveis pela disseminaçãao da doença. O caso mais antigo documentado de Aids é de um paciente em Leopoldville, Congo Belga (hoje Kinshasa, capital da República Democrática do Congo). Esse homem morreu em 1959; amostras preservadas de seu sangue apresentam anticorpos contra o HIV. No mundo Ocidental, o primeiro caso confirmado de Aids foi de um marinheiro norueguês em 1976, que provavelmente foi infectado em 1961 ou 1962 através de contatos no oeste da África.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Em que continente se originou o vírus HIV? **19-23**

Infecção por HIV

Um dos conceitos errados mais comuns é que a infecção por HIV é sinônimo de Aids. Aids denota apenas o estágio final de uma infecção prolongada.

A estrutura do HIV

O HIV, do gênero *Lentivirus*, é um retrovírus (veja a Figura 13.19, página 390). Ele tem duas fitas idênticas de RNA, a enzima transcriptase reversa e um envelope de fosfolipídeo (**Figura 19.13**). O envelope tem espículas glicoproteicas designadas **gp120** (a notação para uma glicoproteína com peso molecular de 120.000).

(a) Infecção latente. O DNA viral é integrado ao DNA celular e forma um provírus (veja a página 389), que mais tarde pode ser ativado para produzir vírus infectivos.

(b) Infecção ativa. O provírus é ativado, permitindo que controle a síntese de novos vírus, que brotam da célula hospedeira. A montagem final acontece na membrana celular, levando as proteínas do envelope viral à medida que o vírus brota da célula.

Figura 19.14 **Infecção por HIV latente e ativa em células T $CD4^+$.**

P O que é uma infecção latente?

Infectividade e patogenicidade do HIV

Existe uma forte associação entre a infecção por HIV e o sistema imune. O HIV geralmente é disseminado pelas células dendríticas, as quais capturam o vírus e o carregam consigo para os órgãos linfoides, onde o vírus entra em contato com as células do sistema imune, em especial células T ativadas, e estimula uma forte resposta imune inicial.

Para ser infectivo, o HIV deve percorrer os passos de fixação, fusão e entrada de um modo semelhante ao mostrado na Figura 13.14, página 384, e na Figura 19.13. A fixação à célula-alvo depende da combinação da glicoproteína espicular (gp120) com o receptor $CD4^+$. Aproximadamente 65.000 desses receptores são encontrados em cada célula T $CD4^+$ auxiliar, que é o principal alvo da infecção por HIV. Certos co-receptores também são necessários. Os dois co-receptores de quimiocinas mais conhecidos são designados CCR5 e CXCR4.* Os macrófagos e os monócitos (página 454) também carregam moléculas CD4. (Muitas células que não expressam a molécula CD4 também podem se tornar infectadas, uma indicação de que outros receptores também podem servir para a infecção por HIV.)

Na célula hospedeira, o RNA viral é liberado e transcrito em DNA pela enzima transcriptase reversa. Esse DNA viral então se torna integrado ao DNA cromossômico da célula hospedeira. O DNA pode controlar a produção de uma infecção ativa, na qual novos vírus brotam da célula, como mostrado na **Figura 19.14b**.

Alternativamente, este DNA integrado pode não produzir novos HIV, mas permanece escondido no cromossomo da célula hospedeira como um *provírus* (**Figuras 19.14a** e **19.15a**). O HIV produzido por uma célula hospedeira não é necessariamente liberado pela célula, mas permanece como *vírion latente* em vacúolos dentro da célula (**Figura 19.15b**). De fato, um subgrupo de células infectadas por HIV, em vez de serem mortas, tornam-se células T de memória de vida longa, onde o reservatório de HIV latente pode persistir por décadas. Essa habilidade do vírus de permanecer como um provírus ou um vírus latente dentro das células hospedeiras o protege do sistema imune. Outro modo pelo qual o HIV escapa do sistema imune é a *fusão célula-célula*, pela qual o vírus se move de uma célula infectada para uma célula adjacente não infectada.

O vírus também engana as defesas imunes sofrendo rápidas mudanças antigênicas. Os retrovírus, com a etapa da enzima trans-

* Esta nomenclatura é baseada na sequência inicial de aminoácidos nessas proteínas. O termo CCR5 indica que a sequência inicial consiste em cisteínas, daí o CC. Por convenção, a letra R representa o equilíbrio da molécula proteica, e o número é para a identificação. Se algum outro aminoácido estiver localizado entre as duas primeiras cisteínas, isto é mostrado no nome – por exemplo, CXCR4.

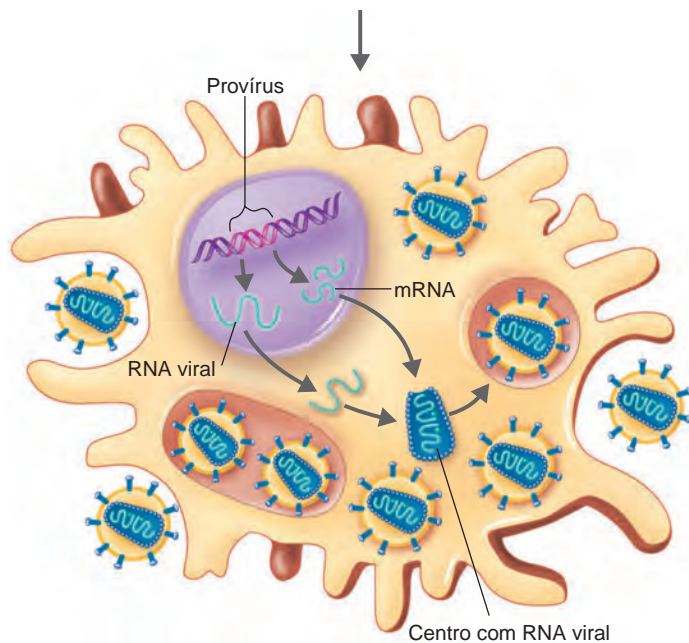
(a) Macrófago com infecção latente. O HIV pode persistir como um provírus ou então como um vírion completo em vacúolos.

(b) Macrófago ativado. Novos vírus são produzidos a partir do provírus. Vírions concluídos são liberados ou então permanecem no macrófago dentro de vacúolos.

Figura 19.15 **Infecção por HIV latente e ativa em macrófagos.**

P Como uma infecção ativa difere de uma infecção latente?

criptase reversa, têm uma alta taxa de mutação, se comparados com os vírus de DNA. Como resultado, uma mutação é provavelmente introduzida em todas as posições no genoma do HIV várias vezes ao dia em uma pessoa infectada. Isso pode equivaler a um acúmulo de 1 milhão de variantes do vírus em uma pessoa assintomática, e 100 milhões de variantes durante os estágios finais da infecção. Esses números dramáticos ilustram os problemas em potencial de resistência a drogas e os obstáculos para o desenvolvimento de vacinas e testes diagnósticos.

Clados (subtipos) de HIV

Mundialmente, o genoma do HIV está começando a se separar em grupos distintos. Com base no sequenciamento dos genomas virais, existem atualmente três grupos de HIV-1, designados M (*principal*, de *Main*), O (*paralelo*, de *outlier*) e N (*não M ou O*). Dentro do grupo M existem nove clados (do grego para ramificações), designados A a D, F a H, J e K. Os mais predominantes são os clados C e E (na realidade, o clado E é um recombinante renomeado CRF-OIAE). O clado C, que está se espalhando da África Central em direção à África do Sul, também é o mais comum na Índia e no sudeste da Ásia e está se tornando dominante em regiões da China. Esse clado pode agora representar metade de todas as infecções por HIV no mundo inteiro. O clade E é encontrado principalmente no sudeste da Ásia. Na América do Norte, na América do Sul e na Europa, o clade B é o mais predominante. Esses grupos estão sofrendo constante revisão e recombinação.

Os estágios da infecção pelo HIV

O progresso da infecção por HIV em adultos pode ser dividido em três fases clínicas (**Figura 19.16**):

Fase 1. O número de moléculas de RNA viral por mililitro de plasma sanguíneo pode atingir mais de 10 milhões na primeira semana. Bilhões de células T $CD4^+$ podem ser infectadas em algumas semanas. As respostas imunes e menos células não infectadas como alvo depletam bruscamente os números virais no plasma sanguíneo dentro de semanas. A infecção pode ser assintomática ou causar linfadenopatia (linfonodos inchados).

Fase 2. Os números de células T $CD4^+$ diminuem constantemente. A replicação do HIV continua, porém em um nível relativamente baixo, provavelmente sendo controlada pelas células T $CD8^+$ (veja a página 489, Capítulo 17) e ocorrendo principalmente no tecido linfoide. Apenas algumas células relativamente infectadas liberam o HIV, embora muitas possam conter o vírus nas formas latente ou proviral. Há poucos sintomas graves da doença, mas um declínio da resposta imune pode se tornar aparente pelo aparecimento de infecções persistentes pela levedura *Candida albicans*, que podem aparecer na boca, na garganta ou na vagina. Outras condições podem incluir febre e diarreia persistente. Leucoplaquia oral (manchas esbranquiçadas na mucosa oral), ocasionada pela reativação dos vírus Epstein-Barr latentes, herpes zoster e outras indicações da diminuição da imunidade podem aparecer.

Fase 3. A Aids clínica emerge, geralmente em 10 anos de infecção. As contagens de células T $CD4^+$ estão abaixo de 350 células/μL (contagem de 200 células/μL define Aids). Condições clínicas importantes indicadoras da Aids aparecem, como infecção dos brônquios, da traqueia ou dos pulmões por *C. albicans*; infecções dos olhos por citomegalovírus; tuberculose; pneumonia por *Pneumocystis*; toxoplasmose no cérebro; e sarcoma de Kaposi.

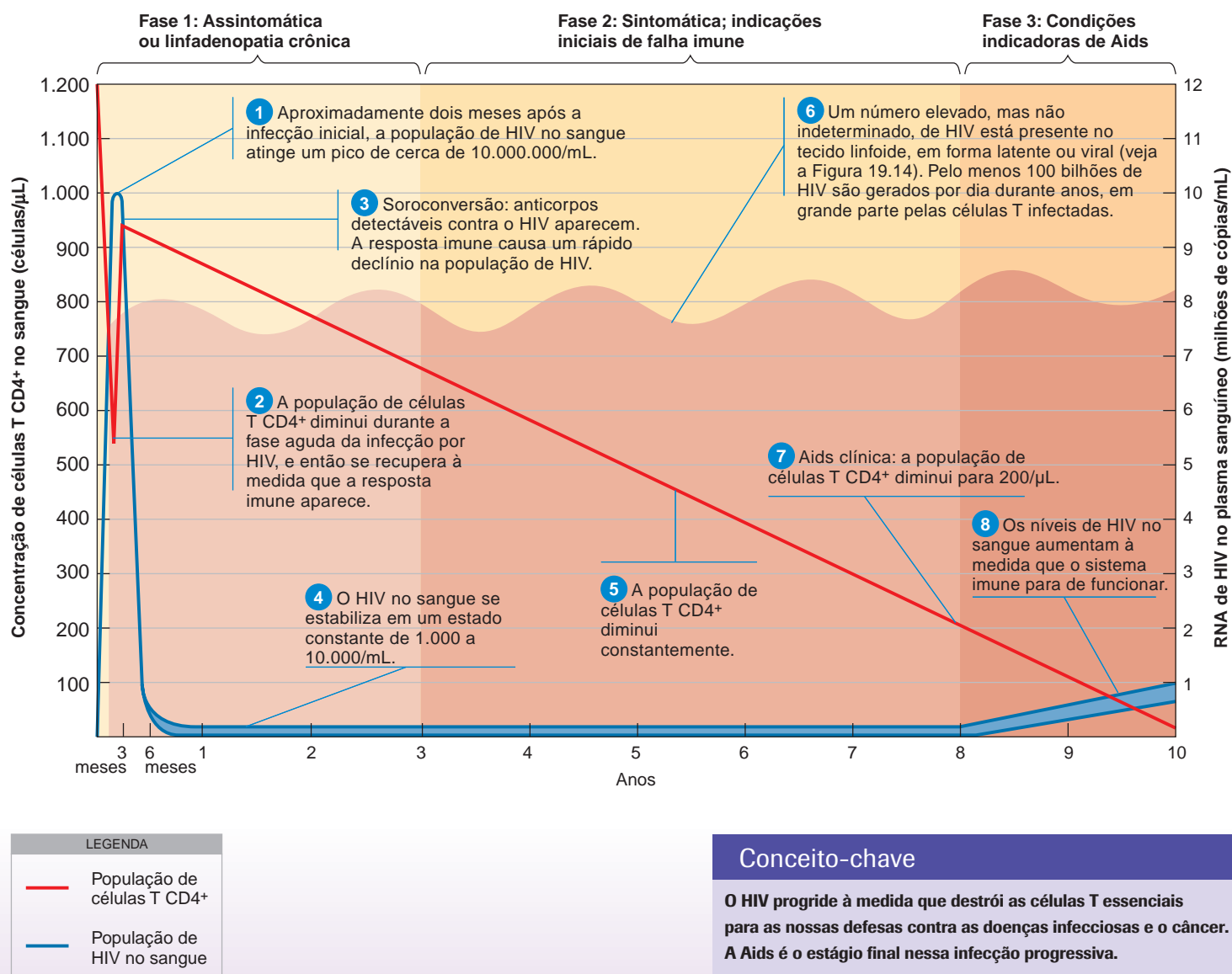
Os Centros para Prevenção e Controle de Doenças (CDC, de *Centers for Disease Control and Prevention*) classificam o progresso das infecções por HIV com base nas populações de células T. O propósito é fornecer principalmente um guia para o tratamento, como quando administrar certas drogas. A população normal de

Figura 19.16

FIGURA FUNDAMENTAL Progressão da infecção por HIV

Entender como a infecção por HIV progride em um hospedeiro é essencial para entendermos o diagnóstico, a transmissão, a prevenção e o tratamento dessa pandemia, discutidos neste capítulo.

Conceito-chave

O HIV progride à medida que destrói as células T essenciais para as nossas defesas contra as doenças infecciosas e o câncer. A Aids é o estágio final nessa infecção progressiva.

um indivíduo saudável é de 800 a 1.000 células T CD4^{+}/µL. Nos Estados Unidos, uma contagem abaixo de 200/µL é considerada diagnóstico para a Aids, independente da categoria clínica observada.

A progressão da infecção inicial por HIV até a Aids geralmente leva cerca de 10 anos em adultos. Esse número é típico em países industrializados; na África, é quase sempre metade disso. O combate celular em larga escala ocorre durante esse período. Pelo menos 100 bilhões de HIVs são gerados todos os dias, com uma meia-vida extraordinariamente curta de cerca de seis horas. Esses vírus devem ser eliminados pelas defesas do organismo, que incluem os anticorpos, as células T citotóxicas e os macrófagos. Quase todos os HIVs, pelo menos 99%, são produzidos por células T CD4^{+} infectadas, que sobrevivem apenas cerca de dois dias (em geral as células T sobrevivem por vários anos). Diariamente, uma média de aproxi-

Tabela 19.5 Algumas doenças comuns associadas à Aids

Patógeno ou doença	Descrição da doença
Protozoários	
Cryptosporidium hominis	Diarreia persistente
Toxoplasma gondii	Encefalite
Isospora belli	Gastrenterite
Vírus	
Citomegalovírus	Febre, encefalite, cegueira
Vírus herpes simples	Vesículas da pele e membranas mucosas
Vírus varicela zoster	Herpes zoster
Bactérias	
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculose
M. avium-intracellulare	Pode infectar muitos órgãos; gastrenterite e outros sintomas altamente variáveis
Fungos	
Pneumocystis jirovecii	Pneumonia com risco à vida
Histoplasma capsulatum	Infecção disseminada
Cryptococcus neoformans	Disseminado, mas principalmente meningite
Candida albicans	Crescimento excessivo sobre as mucosas vaginal e oral (categoria B da infecção por HIV)
C. albicans	Crescimento excessivo no esôfago e nos pulmões (categoria C da infecção por HIV)
Cânceres ou condições pré-cancerosas	
Sarcoma de Kaposi	Câncer de pele e vasos sanguíneos (causado pelo herpesvírus humano 8)
Leucoplaquia pilosa	Manchas esbranquiçadas nas membranas mucosas; comumente considerada pré-cancerosa
Displasia cervical	Crescimento anormal da cérvice

madamente dois bilhões de células T $CD4^+$ é produzida em uma tentativa de compensar as perdas. Ao longo do tempo, entretanto, há uma perda líquida diária de pelo menos 20 milhões de células T $CD4^+$, um dos principais indicadores da progressão da infecção por HIV. Estudos recentes mostram que o decréscimo das células T $CD4^+$ não ocorre exclusivamente devido à destruição viral direta das células, mas principalmente à vida reduzida das células e à falha do organismo em compensar pelo aumento da produção de células T para reposição.

Resistência à infecção por HIV

Uma característica da infecção por HIV é que o vírus prolifera apesar dos esforços dos sistemas imunes celular e humoral. Como mostrado na Figura 19.16, a infecção por HIV estimula uma resposta imune inicial forte e bastante eficaz. Alguns meses após a infecção, os níveis do vírus diminuem muito. Os fatores mais importantes provavelmente sejam as células T citotóxicas (células T $CD8^+$). Anticorpos neutralizantes não aparecem até que o pico da viremia tenha ocorrido e rápidas mudanças genéticas no vírus tenham diminuído a eficácia dos anticorpos, porém as células T $CD8^+$ continuam a suprimir os números virais. Entretanto, uma vez que a infecção por HIV tenha se estabelecido, torna-se implacavelmente progressiva em quase todos os pacientes. Isso ocorre em grande parte porque o HIV estabelece um *pool* de células T $CD4^+$ infectadas logo no início, e quase nenhum paciente elimina completamente a infecção. Esse reservatório não é erradicado mesmo quando a terapia antiviral reduz a viremia a níveis indetectáveis (menos que 50 moléculas por mililitro). O estabelecimento de uma infecção latente contrasta com quase todas as outras infecções virais, sendo um desafio para qualquer vacina.

Sobrevivência com a infecção por HIV

A infecção pelo HIV devasta o sistema imune, que fica então incapaz de responder com eficácia aos patógenos. As doenças ou condições mais comumente associadas à infecção por HIV e Aids estão resumidas na **Tabela 19.5.** O sucesso no tratamento dessas condições tem prolongado as vidas de muitas pessoas infectadas pelo HIV.

A idade da pessoa infectada também pode ser um fator importante. Adultos mais velhos são menos capazes de substituir as populações de células T $CD4^+$. Bebês e crianças mais novas têm um sistema imune que não está completamente desenvolvido. Eles são muito mais suscetíveis a infecções oportunistas.

Crianças nascidas de mães HIV-positivas nem sempre são infectadas – na verdade, apenas cerca de 20% são. Os bebês que são mais gravemente infectados sobrevivem menos de 18 meses.

População exposta, mas não infectada. Cerca de 1% da população tem uma deleção principal do CCR5, e essas pessoas (em grande parte de origem europeia; a mutação é rara nas populações africanas e asiáticas) são extraordinariamente resistentes às repetidas exposições ao HIV. Nessa população, a molécula CCR5 não aparece na superfície celular, de modo que a infecção não pode ser concluída. (Linhagens raras de HIV não requerem CCR5 e infectam as células de qualquer modo.)

Outra população notável resistente à infecção por HIV surgiu entre prostitutas africanas, que são expostas repetidamente, mas permanecem HIV-negativas. Essas pessoas produzem CTLs que são muito eficazes em combater o HIV.

Pessoas não progressivas de longo prazo. Embora infectadas, algumas pessoas permanecem livres dos sintomas e não progridem ao estágio da Aids, sendo que suas contagens de células T $CD4^+$ permanecem estáveis. Sobrevivência por mais de 25 anos é prognosticada. O mecanismo exato, ou os mecanismos pelos quais o paciente combate com sucesso a infecção, ainda é incerto, embora existam várias hipóteses. Em alguns casos, um fator genético bloqueia a ligação eficaz do HIV ao co-receptor CCR5. Há também evidências de que algumas pessoas não progressivas produzam um fator antiviral que inibe a replicação do HIV.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Qual é o principal receptor nas células hospedeiras ao qual o HIV se liga? **19-24**
- ✓ Um anticorpo contra o capsídeo do HIV seria capaz de reagir com um provírus? **19-25**
- ✓ Uma contagem de 300/μL de célula T $CD4^+$ seria um diagnóstico de Aids? **19-26**
- ✓ Que células do sistema imune são o principal alvo de uma infecção por HIV? **19-27**

Métodos diagnósticos

Os CDC recomendam hoje triagem de rotina para as infecções por HIV em várias circunstâncias, em particular no caso de pacientes estão iniciando tratamento para tuberculose e pacientes que procuram tratamento para doenças sexualmente transmissíveis. O procedimento-padrão para detectar anticorpos HIV tem sido o teste de ELISA (veja a Figura 18.14, página 518), considerado o mais sensível. Existem hoje vários testes rápidos (10 a 20 minutos) e relativamente baratos disponíveis para a triagem do HIV sendo principalmente úteis em clínicas de pronto atendimento e departamentos de emergência, bem como em países em desenvolvimento com poucos recursos. Os testes utilizam urina ou uma quantidade de sangue do dedo, e o teste OraQuick pode até mesmo usar um esfregaço de fluido oral. Alguns desses testes podem ser realizados em casa. Estima-se que 25% dos norte-americanos HIV-positivos não saibam que estão infectados; essa falta de conhecimento favorece a disseminação da doença. Testes de triagem rotineiros rápidos e baratos são muito importantes para mudar essa situação.

Testes de triagem positivos para anticorpos devem ser confirmados por um teste adicional, geralmente pelo teste de *Western blot* (veja a Figura 10.12, página 289).

Um problema do teste do tipo de anticorpo é a janela de tempo entre a infecção e o aparecimento de anticorpos detectáveis, ou **soroconversão**. Esse intervalo, que pode ser de até três meses, é ilustrado na Figura 19.16, onde a soroconversão segue o pico do número de vírus na circulação. Por causa dessa demora, o receptor de um órgão transplantado ou de uma transfusão sanguínea pode se tornar infectado por HIV mesmo que os testes de anticorpos não tenham revelado a presença de vírus. Melhorias no ensaio têm gradualmente estreitado a janela para 21 a 25 dias.

Uma alternativa ao teste confirmatório por *Western blot* foi aprovada recentemente pelo órgão de controle de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos (Food and Drug Administration, FDA). Em vez de anticorpos, o ensaio APTIMA detecta o RNA do vírus HIV-1, devendo ser mais fácil de interpretar que o teste de *Western blot*. Esse teste também pode ser usado para detectar infecções por HIV em seu início, antes do aparecimento dos anticorpos. Sua sensibilidade é comparável a dos testes aprovados utilizados para medir a **carga viral plasmática** (**PVL**, de *plasma viral load*) no sangue dos pacientes e monitorar o tratamento e a progressão da Aids. Testes de PVL convencionais que detectam o RNA viral e que usam métodos como a PCR (veja a página 251) ou a hibridização de ácido nucleico (veja a página 291) são de alto custo e necessitam de 2 a 3 dias para serem concluídos. O RNA viral pode ser detectado em 7 a 10 dias e, menos confiável, em 2 a 4 dias. Para garantir a máxima segurança do fornecimento de sangue, a Cruz Vermelha Americana introduziu testes para anticorpos anti-HIV e testes de hibridização de ácido nucleico para o RNA viral (veja o quadro na página 727).

Os testes que detectam o RNA viral são a única opção durante a infecção primária, antes que os anticorpos apareçam, e em bebês de mães infectadas por HIV que apresentam anticorpos maternos circulantes interferindo com os testes convencionais para detectar anticorpos.

Um cuidado que deve ser considerado nos testes de HIV é que os testes atualmente podem não detectar de modo confiável todas as variantes de mutações do HIV, que são rápidas, em particular os subtipos que em geral não estão presentes em uma população. Além disso, a PVL testa apenas os vírions circulantes no sangue, que são poucos em comparação às centenas de bilhões de células infectadas pelo HIV.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Que forma de ácido nucleico é detectada em um teste de PVL para o HIV? **19-28**

Transmissão do HIV

A transmissão do HIV requer a transferência ou o contato direto com os fluidos do organismo infectado. Os mais importantes são o sangue, que contém de 1.000 a 100.000 vírus infecciosos por mililitro, e o sêmen, que contém cerca de 10 a 50 vírus por mililitro. Os vírus geralmente estão localizados dentro das células nesses fluidos,

Tabela 19.6	Precauções universais dos CDC para profissionais da saúde
Luvas	Luvas descartáveis devem ser usadas durante exposição direta a sangue, outros fluidos corporais e tecidos infectados. Luvas duplas são recomendadas nos procedimentos cirúrgicos invasivos. O profissional não deve trabalhar quando apresentar lesões abertas na pele, fluidos exudativos de dermatites ou feridas cutâneas.
Tocas, máscaras e óculos	Máscaras e óculos são recomendados quando respingos são esperados, como durante manipulação das vias aéreas, endoscopia e procedimentos odontológicos, e no laboratório.
Agulhas	Para minimizar o risco de perfurações, as agulhas não devem ser re-encapadas, devendo ser colocadas em um recipiente à prova de perfurações para esterilização e descarte. Existem disponíveis dispositivos mais seguros que minimizam o risco de perfurações com agulha.
Desinfecção	Limpeza de rotina nos setores de cuidado à saúde devem incluir lavagem com água sanitária diluída 1:100 dos pisos, das paredes e de outras áreas que normalmente não estão associadas com transmissões de doença. Uma diluição 1:10 é recomendada para a desinfecção de líquido derramado.
Tratamento preventivo após exposição	Uma exposição acidental nem sempre pode ser impedida. Estudos indicam que pessoas expostas podem reduzir o risco pelo uso profilático de duas ou três drogas antivirais por quatro semanas.

Fonte: Adaptada do *MMWR*, 2004.

principalmente em macrófagos. O HIV pode sobreviver mais de 1,5 dia dentro de uma célula, mas apenas seis horas fora dela.

As vias de transmissão do HIV incluem contato sexual íntimo, leite materno, infecção transplacentária do feto, agulhas contaminadas com sangue, transplantes de órgãos, inseminação artificial e transfusão de sangue. O risco para os profissionais da saúde pode ser maior. Por exemplo, o risco de infecção de uma lesão por perfuração de agulha é de 3 em 1.000, ou 0,3%. Como medida de precaução, os profissionais da saúde devem ser vacinados contra HBV. Evitar a exposição é a primeira linha de defesa do profissional da saúde contra o HIV. Os CDC desenvolveram a estratégia de seguir as *precauções universais* em todos os programas de cuidado à saúde. Essas precauções estão descritas na **Tabela 19.6.** Provavelmente, a forma mais perigosa de contato sexual seja a relação anal. A relação vaginal tem muito mais probabilidade de transmitir o HIV do homem para a mulher do que o contrário, e a transmissão de ambas as formas é muito maior quando lesões genitais estão presentes. Embora rara, a transmissão pode ocorrer pelo contato orogenital.

O HIV não é transmitido por insetos ou contato casual, como abraços ou utensílios domésticos compartilhados. A saliva geralmente contém menos de 1 vírus por mililitro, e o beijo não é um transmissor conhecido do vírus. Em países desenvolvidos, a transmissão por transfusão é improvável, pois o sangue é testado para HIV ou anticorpos HIV. Entretanto, sempre existe um pequeno risco, como discutido anteriormente.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que forma de contato sexual é considerada a mais perigosa para a transmissão do HIV? **19-29**

Aids no mundo

Aproximadamente 25 milhões de pessoas morreram de Aids (**Figura 19.17**). Calcula-se que 5 milhões se infectam a cada ano. Essa é a principal causa de mortes na África subsaariana. À medida que a doença se estabelece nas populações da Ásia, em particular China e Índia, a incidência do HIV pode exceder mais de um milhão de novos casos por ano. O Leste europeu, a Rússia e a Ásia Central são áreas que também registram um crescimento acentuado nas infecções por HIV. No oeste europeu e nos Estados Unidos, a mortalidade da Aids tem diminuído por causa da disponibilidade de drogas antivirais eficazes. Estima-se que até 2010 haverá um total de mais de 100 milhões de pessoas infectadas por HIV no mundo; mais de 90% serão de países em desenvolvimento. As mortes por causas relacionadas ao HIV até 2010 provavelmente excederão os oito milhões por ano.

No início da pandemia de HIV/Aids, a transmissão nos Estados Unidos e na Europa ocorria mais comumente entre homens homossexuais e pelo uso de drogas injetadas. Esses fatores ainda são muito importantes no mundo Ocidental, particularmente na América do Norte e na América do Sul, e na Europa. Atualmente, um terço de todas as infecções por HIV no leste europeu, no sudeste da Ásia e na Ásia central ocorre pelo uso de drogas injetadas. Essas infecções também são importantes como uma ponte que conduz a outras formas de transmissão. Mundialmente, a transmissão heterossexual é predominante (cerca de 85%), principalmente nas regiões menos desenvolvidas do mundo, como o centro da pandemia na África subsaariana. Uma característica da pandemia nos últimos tempos tem sido o aumento da porcentagem de mulheres infectadas (cerca de 42% no mundo inteiro, a maioria vivendo na África subsaariana), com transmissão associada de mãe para filho. Grande parte dos casos é de mulheres jovens infectadas por homens mais velhos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é o modo mais comum mundialmente pelo qual o HIV é transmitido? **19-30**

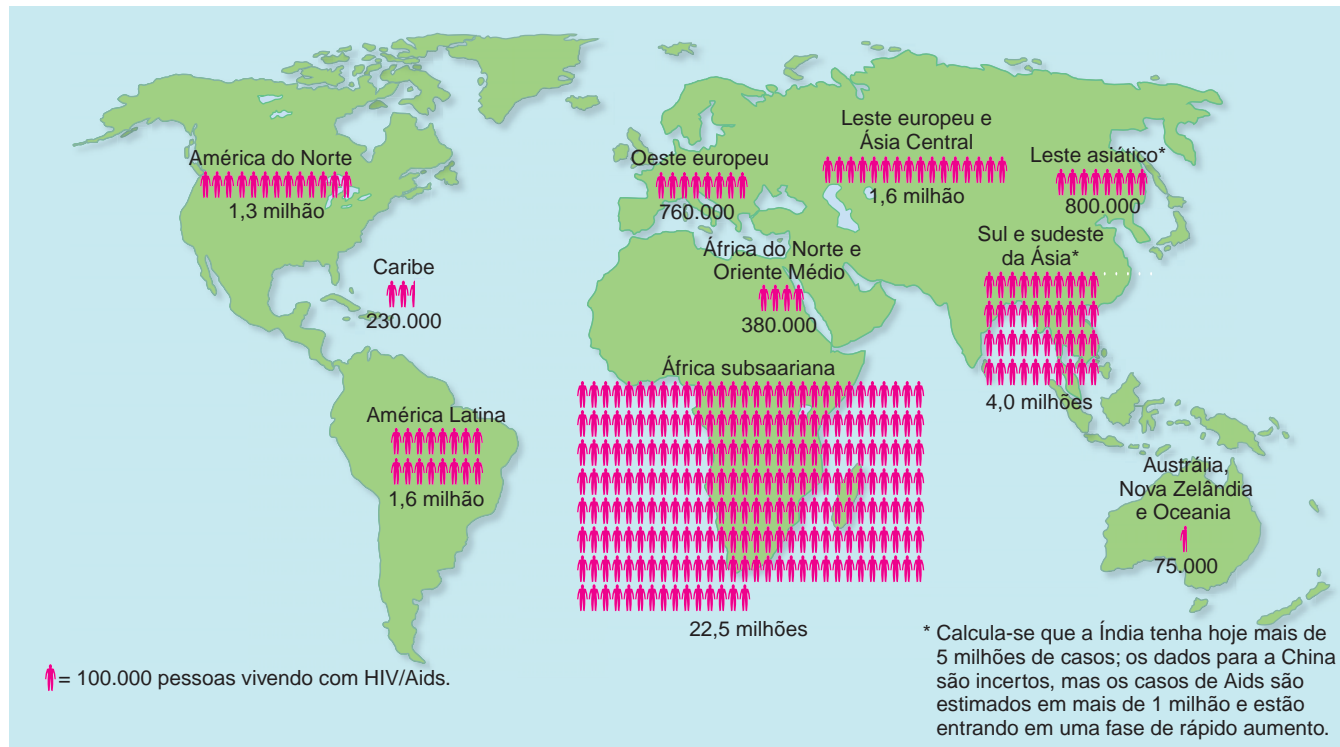



Figura 19.17 Distribuição da infecção por HIV e Aids nas regiões do mundo. Cada figura representa 100.000 pessoas vivendo com a infecção por HIV ou Aids.

P Onde você acha que devem estar os números mais exatos?

Prevenção e tratamento da Aids

No momento, para grande parte do mundo, a única maneira prática de controle é minimizar a transmissão. Isso requer programas de educação para promover o uso de preservativos, assim como desestimular a promiscuidade sexual. Uma descoberta interessante é que a circuncisão nos homens diminui a taxa de infecção em pelo menos 60%. Em países de alta renda, a disponibilidade de medicamentos faz com que a infecção por HIV não seja mais uma sentença de morte. Infelizmente, os avanços nos cuidados da infecção por HIV têm resultado em atitudes relaxadas em relação à prática de sexo seguro. O fato de as drogas disponíveis apenas retardarem o progresso da infecção – mas não serem uma cura tende a ser posto de lado. Tentativas para impedir o uso de agulhas contaminadas entre usuários de drogas injetáveis também são importantes. Para serem eficazes, os programas educacionais geralmente exigem mudanças sociais fundamentais que não são fáceis de alcançar, mas eles têm desacelerado a taxa de infecção em algumas regiões, como a Tailândia.

Vacinas contra o HIV

Uma consideração importante para o desenvolvimento da vacina é o fato de que o sistema imune não tem mostrado capacidade suficiente para lidar com as infecções naturais. Em cerca de 60 milhões de infecções por HIV no mundo inteiro, não há um único caso conhecido no qual o sistema imune tenha erradicado o vírus. Os obstáculos ao desenvolvimento de uma vacina contra o HIV são grandes, e o cenário hoje é repleto de ensaios de vacinas sem êxito. A taxa de mutação rápida do HIV torna difícil desenvolver uma vacina que seja eficaz contra todas as variantes mutacionais do vírus que aparecem durante o curso da infecção. Além disso, o vírus tem desenvolvido clados que diferem consideravelmente de uma região geográfica para outra, e cada uma provavelmente requereria uma vacina adequada.

De modo ideal, uma vacina produziria anticorpos que impediriam a infecção. Como vimos, entretanto, o vírus resiste à ligação ao anticorpo até o último segundo de exposição logo antes da fixação e da entrada na célula hospedeira. Para as pessoas já infectadas, uma vacina do tipo celular bem-sucedida seria necessária para controlar a progressão da doença. Para ser considerada de sucesso, entretanto, a vacina teria que estimular a produção de CTLs que são mais eficazes que aqueles produzidos em resposta a uma infecção natural. Células infectadas por HIV não são muito suscetíveis ao ataque por CTLs. Há também o problema de uma população viral persistente, mas imunologicamente invisível, na forma de provírus e vírus latentes (veja a Figura 19.15). Finalmente, uma vacina teria que ser acessível para as regiões do mundo onde a subsistência econômica geralmente é marginal. Levando tudo em consideração, o desenvolvimento de uma vacina contra o HIV é uma tarefa difícil

de ser realizada. Alguns especialistas acreditam que não será possível qualquer vacina contra o HIV que confira proteção quase completa, como a vacina contra a varíola ou o sarampo. Acredita-se que o mais prático deva ser desenvolver uma vacina com objetivos mais modestos do que a "imunidade esterelizante". Talvez uma vacina que estimule a imunidade celular em pessoas já infectadas e ajude o sistema imune do paciente a eliminar o vírus.

Quimioterapia

Muito progresso foi feito no uso da quimioterapia para inibir as infecções por HIV. As drogas disponíveis para quimioterapia do HIV são discutidas na página 571. O primeiro alvo das drogas anti-HIV foi a enzima transcriptase reversa (página 254), uma enzima ausente nas células humanas. Esses inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa são análogos de nucleosídeos e causam o término da síntese do DNA viral por inibição competitiva (página 120). Há outras drogas que inibem a transcrição reversa, mas não são análogos de ácidos nucleicos. Elas são os chamados *inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa*.

Para se reproduzir, o vírus faz uso de certas enzimas proteases que cortam as proteínas em pedaços, sendo então remontadas no capsídeo das novas partículas do HIV. Drogas chamadas de *inibidores de protease* inibem essa enzima e estão em uso atualmente.

Para a infecção acontecer, o vírus deve cumprir uma série de passos. Ele deve se fixar aos receptores celulares CD4, uma interação entre a glicoproteína gp120 do vírus e o co-receptor (como o CCR5) deve ocorrer e, finalmente, deve haver uma fusão com a célula para permitir a entrada viral na célula (veja a Figura 19.13). Uma das drogas anti-HIV mais recentes, agrupadas como *inibidores de fusão*, tem como alvo a região da gp41 do envelope viral.

Após a fusão ter sido concluída, a transcrição reversa produz uma versão de cDNA de fita dupla do HIV, que entra no núcleo. Dentro do núcleo, o complexo contendo o cDNA deve ser integrado no cromossomo para formar o provírus HIV. Esse passo requer uma enzima, a HIV-integrase, que é um alvo para as drogas chamadas de *inibidores de integrase*. Existem vários outros pontos de ataque para as drogas anti-HIV, e drogas como os inibidores de maturação, dirigidas para esses pontos, estão sob investigação ou estão em ensaios clínicos.

Por causa do número cada vez maior de drogas que controlam a reprodução do vírus, pelo menos temporariamente, a infecção por HIV está quase no estágio onde pode ser considerada uma doença crônica tratável – assumindo que o tratamento seja acessível. A taxa de reprodução rápida e a ocorrência frequente de mutações com resistência a drogas ditam que múltiplas drogas, administradas simultaneamente, devam ser usadas. O tratamento atual é denominado **terapia antirretroviral altamente ativa** (**HAART**, de *highly active antiretroviral therapy*). Essa terapia consiste na administração de combinações de drogas; uma das combinações mais comuns é a de dois inibidores dos análogos de nucleosídeos da transcriptase reversa mais um inibidor não nucleosídeo de nucleosídeos da transcriptase reversa ou um inibidor de protease. Os pacientes geralmente devem tomar 40 pílulas por dia em um programa complexo, que deve ser aderido rigorosamente, pois o vírus é implacável. Mesmo assim, linhagens resistentes do vírus podem surgir. Como um cientista colocou, a resistência a drogas pelo HIV é dirigida por pressões seletivas que Darwin nunca imaginou. A experiência também tem mostrado que a eliminação de todos os vírus na forma latente no tecido linfoide é muito difícil. O número de HIVs na circulação geralmente está reduzido a menos do que pode ser detectado, mas isso não é o mesmo que erradicação. Deve-se ter cautela, pois um paciente com uma carga viral com um nível indetectável ainda pode ser infectivo. Testes frequentes para os vírus (não anticorpos; veja a discussão dos testes diagnósticos na página 545) são necessários para verificar a eficácia do tratamento. Uma elevação nos números indica provavelmente o desenvolvimento de uma população resistente.

Uma aplicação de sucesso da quimioterapia foi reduzir a chance da transmissão do HIV de uma mãe infectada para seu recém-nascido. A administração de somente uma droga de nucleosídeo de transcriptase reversa reduz a incidência.

A epidemia da Aids e a importância da pesquisa científica

A epidemia da Aids fornece clara evidência do valor da pesquisa científica básica. Sem os avanços da biologia molecular no século passado, seríamos incapazes até mesmo de identificar o agente causador da Aids. Não seríamos capazes de desenvolver os testes para triagem do sangue doado, identificar pontos no ciclo de vida viral para os quais drogas tóxicas seletivas poderiam ser desenvolvidas ou mesmo monitorar o curso da infecção. Durante nossas vidas, teremos a oportunidade de presenciar a história da medicina sendo feita enquanto a batalha com esse vírus mortal e elusivo continua.

TESTE SEU CONHECIMENTO

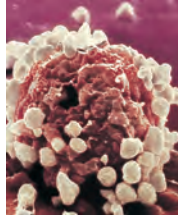
✓ A circuncisão torna o homem mais ou menos suscetível a adquirir a infecção por HIV? **19-31**

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 522)

1. Rinite alérgica, rejeição a transplantes e autoimunidade são exemplos de reações imunes nocivas.
2. Imunossupressão é a inibição do sistema imune.
3. Superantígenos ativam muitos receptores de células T que podem causar respostas adversas do hospedeiro.

Hipersensibilidade (p. 523-531)

1. As reações de hipersensibilidade representam respostas imunológicas a um antígeno (alérgeno) que causam mais dano ao tecido do que imunidade.
2. As reações de hipersensibilidade ocorrem quando uma pessoa foi sensibilizada a um antígeno.
3. As reações de hipersensibilidade podem ser divididas em quatro classes principais: os tipos I, II e III são reações imediatas baseadas na imunidade humoral, e o tipo IV é uma reação tardia baseada na imunidade celular.

Reações tipo I (anafiláticas) (p. 523-526)

4. As reações anafiláticas envolvem a produção de anticorpos IgE que se ligam aos mastócitos e basófilos para sensibilizar o hospedeiro.
5. A ligação de dois anticorpos IgE adjacentes a um antígeno faz com que a célula-alvo libere mediadores químicos, como histamina, leucotrienos e prostaglandinas, que provocam as reações alérgicas observadas.
6. A anafilaxia sistêmica pode se desenvolver em minutos após injeção ou ingestão do antígeno; isso pode resultar em colapso circulatório e morte.
7. A anafilaxia localizada é exemplificada por urticária, rinite alérgica e asma.
8. O teste de pele é útil para determinar a sensibilidade a um antígeno.
9. A dessensibilização pode ser obtida por injeções repetidas do antígeno, o que leva à formação de anticorpos (IgG) bloqueadores.

Reações tipo II (citotóxicas) (p. 526-528)

10. Reações tipo II são mediadas por anticorpos IgG ou IgM e complemento.
11. Os anticorpos são direcionados às células estranhas ou células do hospedeiro. A fixação do complemento pode resultar em lise celular. Os macrófagos e outras células também podem danificar células revestidas por anticorpos.

O sistema de grupo sanguíneo ABO (p. 526, 527)

12. O sangue humano pode ser agrupado em quatro tipos principais, designados A, B, AB e O.
13. A presença ou ausência de dois antígenos carboidratos designados A e B na superfície da hemácia determina o tipo sanguíneo de uma pessoa.
14. Anticorpos de ocorrência natural estão presentes no soro contra o antígeno oposto AB.
15. Transfusões sanguíneas incompatíveis levam à lise mediada pelo complemento das hemácias do doador.

O sistema de grupo sanguíneo Rh (p. 527, 528)

16. Aproximadamente 85% da população humana possuem outro antígeno de grupo sanguíneo, designado antígeno Rh; essas pessoas são denominadas Rh^+.
17. A ausência deste antígeno em certas pessoas (Rh^-) pode levar à sensibilização após a exposição a ele.
18. Uma pessoa Rh^+ pode receber transfusões sanguíneas Rh^+ ou Rh^-.
19. Quando uma pessoa Rh^- recebe sangue Rh^+, ela produzirá anticorpos anti-Rh.
20. A exposição subsequente a células Rh^+ resultará em uma reação hemolítica rápida e grave.
21. Uma mãe Rh^- carregando um feto Rh^+ produzirá anticorpos anti-Rh.
22. Gestações posteriores envolvendo incompatibilidade de Rh podem resultar na doença hemolítica do recém-nascido.
23. A doença pode ser impedida por imunização passiva da mãe com anticorpos anti-Rh.

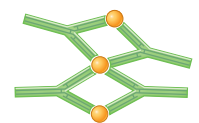
Reações citotóxicas induzidas por drogas (p. 528)

24. Na doença púrpura trombocitopênica, as plaquetas são destruídas por anticorpos e complemento.
25. Agranulocitose e anemia hemolítica resultam de anticorpos contra as próprias células revestidas com moléculas da droga.

Reações tipo III (imunocomplexos) (p. 528, 529)

26. As doenças por imunocomplexos ocorrem quando os anticorpos IgG e o antígeno solúvel formam complexos pequenos que se alojam na membrana basal das células.
27. A fixação do complemento subsequente resulta em inflamação.
28. A glomerulonefrite é uma doença por imunocomplexo.

Reações tipo IV (celulares tardias) (p. 529-531)

29. As reações de hipersensibilidade tardia são devidas principalmente à proliferação de células T.
30. As células T sensibilizadas secretam citocinas em resposta ao antígeno apropriado.
31. As citocinas atraem e ativam os macrófagos e iniciam o dano tecidual.
32. O teste de pele de tuberculina e a dermatite alérgica de contato são exemplos de hipersensibilidade tardia.

Doenças autoimunes (p. 532, 533)

1. A autoimunidade resulta da perda de autotolerância.
2. A autotolerância ocorre durante o desenvolvimento fetal; as células T que são dirigidas às células hospedeiras são eliminadas (deleção clonal) ou inativadas.
3. A autoimunidade pode ocorrer devido a anticorpos contra agentes infecciosos.
4. A doença de Graves e a miastenia grave são reações autoimunes citotóxicas nas quais os anticorpos reagem aos antígenos de superfície celular.

5. O lúpus eritematoso sistêmico e a artrite reumatoide são reações autoimunes imunocomplexas nas quais a deposição de complexos imunes resulta em dano tecidual.
6. A esclerose múltipla, o diabetes melito dependente de insulina e a psoríase são reações autoimunes celulares mediadas por células T.

Reações relacionadas ao complexo de antígeno leucocitário humano (HLA)

(p. 533-537)

1. As moléculas próprias de histocompatibilidade localizadas nas superfícies celulares expressam as diferenças genéticas entre os indivíduos. Esses antígenos são codificados pelos genes dos complexos de MHC ou HLA.
2. Para impedir a rejeição aos transplantes, os antígenos do grupo ABO ou HLA do doador e do receptor são comparados o máximo possível.
3. Transplantes reconhecidos como antígenos estranhos podem sofrer lise pelas células T e ser atacados por macrófagos e anticorpos de fixação do complemento.
4. O transplante para um sítio privilegiado (como a córnea) ou de um tecido privilegiado (como as válvulas cardíacas de porco) não causa uma resposta imune.
5. Células-tronco pluripotentes se diferenciam em uma variedade de tecidos que podem fornecer tecidos para transplante.
6. Quatro tipos de transplantes foram definidos, com base nas relações genéticas entre o doador e o receptor: autoenxertos, isoenxertos, aloenxertos e xenoenxertos.
7. A medula óssea (com células imunocompetentes) pode causar a doença enxerto-*versus*-hospedeiro.
8. Cirurgias de transplante bem-sucedidas geralmente requerem drogas imunossupressoras para impedirem uma resposta imune ao tecido transplantado.

O sistema imune e o câncer (p. 537, 538)

1. Células cancerosas são células normais que sofreram transformação, se dividem de modo incontrolável e possuem antígenos associados ao tumor.
2. A resposta do sistema imune ao câncer é chamada de vigilância imunológica.
3. As células T_C reconhecem e causam a lise das células cancerosas.
4. As células cancerosas podem escapar da detecção e destruição pelo sistema imune.
5. As células cancerosas podem crescer mais rapidamente do que o sistema imune pode responder.

Imunoterapia do câncer (p. 538)

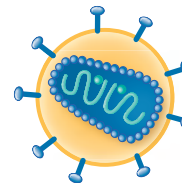
6. Vacinas contra o câncer de fígado e o câncer cervical estão disponíveis.
7. A herceptina consiste em anticorpos monoclonais contra um fator de crescimento do câncer de mama.
8. As imunotoxinas são tóxicos químicos ligados a um anticorpo monoclonal; o anticorpo localiza seletivamente a célula cancerosa para a liberação do tóxico.

Imunodeficiências (p. 538)

1. As imunodeficiências podem ser congênitas ou adquiridas.
2. As imunodeficiências congênitas se devem a genes ausentes ou deficientes.
3. Uma variedade de drogas, cânceres e doenças infecciosas podem causar imunodeficiências adquiridas.

Síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids) (p. 539-548)

A origem da Aids (p. 540)

1. Acredita-se que o HIV tenha se originado na África Central e tenha sido trazido para outros países pelo transporte moderno e por práticas de sexo não seguras.

Infecção por HIV (p. 540-545)

2. A Aids é o estágio final da infecção por HIV.
3. O HIV é um retrovírus com RNA de fita simples, transcriptase reversa e um envelope de fosfolipídeo com espículas gp120.
4. As espículas do HIV fixam-se ao $CD4^+$ e aos co-receptores nas células hospedeiras; o receptor $CD4^+$ é encontrado em células T auxiliares, macrófagos e células dendríticas.
5. O RNA viral é transcrito em DNA pela transcriptase reversa. O DNA viral se torna integrado ao cromossomo do hospedeiro para dirigir a síntese de novos vírus ou permanecer latente como um provírus.
6. O HIV escapa do sistema imune na latência, em vacúolos, ao usar a fusão célula-célula, e por mudança antigênica.
7. Grupos geneticamente distintos de HIV são classificados em clados.
8. A infecção por HIV é categorizada por sintomas: a Fase 1 (assintomática) e a Fase 2 (sintomas selecionados) são registradas como Aids se as células T $CD4^+$ estiverem abaixo de 200 células/μL; a Fase 3 (condições indicadoras de Aids) é registrada como Aids.
9. A infecção por HIV também é categorizada pelos números de células T CD4: a presença de 200 células CD4/μL é relatada como Aids.
10. A progressão da infecção por HIV à Aids leva aproximadamente 10 anos.
11. A vida de um paciente com Aids pode ser prolongada pelo tratamento adequado das infecções oportunistas.
12. Pessoas que não têm CCR5 são resistentes à infecção por HIV.

Métodos diagnósticos (p. 545)

13. Anticorpos HIV são detectados por ELISA e *Western blotm*.
14. Os testes de carga viral plasmática detectam o ácido nucleico viral e são usados para quantificar o HIV no sangue.

Transmissão do HIV (p. 545, 546)

15. O HIV é transmitido por contato sexual, leite materno, agulhas contaminadas, infecção transplacentária, inseminação artificial, e transfusão de sangue.
16. Em países desenvolvidos, as transfusões sanguíneas não são uma fonte provável de infecção, pois o sangue é testado para anticorpos contra o HIV.

Aids no mundo (p. 546)

17. A relação heterossexual é o principal meio de transmissão do HIV.

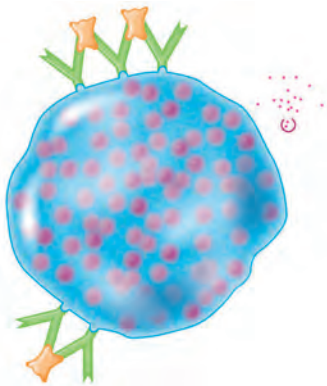
Prevenção e tratamento da Aids (p. 547, 548)

18. O uso de preservativos e agulhas estéreis previne a transmissão do HIV.
19. O desenvolvimento de uma vacina é difícil, pois o vírus permanece dentro das células hospedeiras.
20. Os agentes quimioterápicos atuais atacam as enzimas do vírus, incluindo transcriptase reversa, integrase e protease.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Identifique e marque a IgE, o antígeno e o mastócito, adicionando um anti-histamínico na figura a seguir. Que tipo de célula é essa? O Singulair interrompe a inflamação ao bloquear os receptores de leucotrienos. Adicione essa ação à figura.

2. No laboratório, o sangue é tipado ao se observar a hemaglutinação. Por exemplo, anticorpos anti-A e hemácias tipo A se agregam. Em uma pessoa tipo A, anticorpos anti-A causam hemólise. Por quê?
3. Discuta as funções dos anticorpos e dos antígenos em um transplante de tecido incompatível.
4. Explique o que acontece quando uma pessoa desenvolve sensibilidade por contato ao carvalho venenoso?
   a. O que causa os sintomas observados?
   b. Como se desenvolveu a sensibilidade?
   c. Como essa pessoa poderia ser dessensibilizada ao carvalho venenoso?
5. Por que um teste ANA (de *antinuclear antibody*) diagnostica lúpus?
6. Diferencie os três tipos de doenças autoimunes. Forneça um exemplo de cada tipo.
7. Resuma as causas das imunodeficiências. Qual é o efeito de uma imunodeficiência?
8. De que maneira as células tumorais diferem antigenicamente das células normais? Explique como as células tumorais podem ser destruídas pelo sistema imune.
9. Se as células tumorais podem ser destruídas pelo sistema imune, como o câncer se desenvolve? O que envolve a imunoterapia?

Múltipla escolha

1. A dessensibilização para prevenir uma resposta alérgica pode ser obtida pela injeção de doses pequenas e repetidas de
   a. Anticorpos IgE.
   b. O antígeno (alérgeno).
   c. Histamina.
   d. Anticorpos IgG.
   e. Anti-histamínicos.
2. O que significa "pluripotente"?
   a. Habilidade de uma única célula se desenvolver em uma célula-tronco embrionária ou adulta.
   b. Habilidade de uma célula-tronco se desenvolver em muitos tipos diferentes de células.
   c. Uma célula sem os antígenos MHC I e MHC II.
   d. Habilidade de uma única célula-tronco curar diferentes tipos de doenças.
   e. Habilidade de uma célula adulta se tornar uma célula-tronco.
3. A autoimunidade citotóxica difere da autoimunidade de imunocomplexo, pois as reações citotóxicas
   a. Envolvem anticorpos.
   b. Não envolvem o complemento.
   c. São causadas por células T.
   d. Não envolvem anticorpos IgE.
   e. Nenhuma das alternativas.
4. Anticorpos contra o HIV são ineficazes por todos os motivos a seguir, *exceto:*
   a. O fato de que anticorpos não são feitos contra o HIV.
   b. Transmissão por fusão célula-célula.
   c. Mudanças antigênicas.
   d. Latência.
   e. Persistência das partículas virais nos vacúolos.
5. A seguir, qual *não* é a causa de uma imunodeficiência natural?
   a. Um gene recessivo resultando na ausência de um timo.
   b. Um gene recessivo resultando em poucas células B.
   c. Infecção por HIV.
   d. Drogas imunossupressoras.
   e. Nenhuma das alternativas.
6. Quais anticorpos serão encontrados naturalmente no soro de uma pessoa com sangue tipo A, Rh^+?
   a. Anti-A, anti-B, anti-Rh.
   b. Anti-A, anti-Rh.
   c. Anti-A.
   d. Anti-B, anti-Rh.
   e. Anti-B.

Use as seguintes opções para relacionar o tipo de hipersensibilidade aos exemplos nas questões 7 a 10.

   a. Hipersensibilidade tipo I.
   b. Hipersensibilidade tipo II.
   c. Hipersensibilidade tipo III.
   d. Hipersensibilidade tipo IV.
   e. Nenhuma das alternativas.

7. Anafilaxia localizada.
8. Dermatite alérgica de contato.
9. Gerada a partir de imunocomplexos.
10. Reação a uma transfusão de sangue incompatível.

Pensamento crítico

1. Quando e como nosso sistema imune discrimina entre os antígenos próprios e não próprios?
2. As primeiras preparações usadas para a imunidade passiva adquirida artificialmente eram anticorpos do soro de cavalo. Uma complicação que resultava do uso terapêutico do soro de cavalo era a doença por imunocomplexos. Por que isso ocorria?
3. As pessoas com Aids produzem anticorpos? Em caso positivo, por que se diz que elas apresentam uma imunodeficiência?
4. Quais são os modos de ação das drogas anti-Aids?

Aplicações clínicas

1. As infecções fúngicas como o pé-de-atleta são crônicas. Esses fungos degradam a queratina da pele, mas não são invasivos e não produzem toxinas. Por que você imagina que muitos dos sintomas de uma infecção fúngica são devidos à hipersensibilidade ao fungo?
2. Após trabalhar em uma fazenda de cogumelos por vários meses, um trabalhador desenvolveu estes sintomas: urticária, edema e aumento dos linfonodos.
   - **a.** O que esses sintomas indicam?
   - **b.** Que mediadores causam esses sintomas?
   - **c.** Como a sensibilidade a um antígeno particular pode ser determinada?
   - **d.** Outros empregados não parecem ter quaisquer reações imunológicas. O que poderia explicar isso?
3. Médicos administrando vacinas vivas atenuadas de caxumba e sarampo preparadas em embriões de galinha são instruídos a ter epinefrina disponível. A epinefrina não tratará essas infecções virais. Qual é o propósito de manter essa droga à disposição?
4. Uma mulher com sangue tipo A+ recebeu uma vez uma transfusão de sangue AB+. Quando ela estava grávida de um bebê tipo B+, o feto desenvolveu a doença hemolítica do recém-nascido. Explique por que esse feto desenvolveu esta condição, quando outro feto tipo B+ em uma mãe tipo A+ foi normal.

20 Drogas Antimicrobianas

Quando as defesas normais do organismo não são capazes de impedir ou derrotar uma doença, ela frequentemente pode ser tratada por **quimioterapia** pelo uso de drogas antimicrobianas. Como os desinfetantes, discutidos no Capítulo 7, as **drogas antimicrobianas** agem matando ou interferindo no crescimento dos micro-organismos. Diferentemente dos desinfetantes, no entanto, essas drogas precisam agir dentro do hospedeiro, sem causar dano a ele. Esse é o princípio da **toxicidade seletiva**.

Os antibióticos estão entre as mais importantes descobertas da medicina moderna. Ainda está na memória das pessoas um tempo em que pouco podia ser feito para tratar muitas doenças infecciosas letais. A introdução de agentes antimicrobianos, como penicilinas e sulfanilamidas, para tratar condições como um apêndice supurado ou o envenenamento do sangue (sepse) resultou em curas que pareciam quase miraculosas.

Hoje testemunhamos os avanços representados por essas drogas miraculosas ameaçados pelo desenvolvimento da **resistência a antibióticos**. Por exemplo, existem relatos frequentes de patógenos estafilocócicos que são resistentes a quase todos os antibióticos disponíveis. Certas populações de patógenos que causam a tuberculose são agora resistentes a quase todas as drogas anteriormente efetivas. Em alguns casos, a medicina dispõe atualmente de poucas armas efetivas para o tratamento das doenças causadas por esses patógenos, muito menos do que era disponível há um século.

SOB O MICROSCÓPIO
Lise bacteriana causada por um antibiótico.

P&R

Esta bactéria está sendo lisada porque um antibiótico destruiu sua parede celular. Por que os antibióticos não lisam as células humanas?

Procure pela resposta neste capítulo.

A história da quimioterapia

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

20-1 Identificar as contribuições de Paul Ehrlich e Alexander Fleming para a quimioterapia.

20-2 Identificar os micróbios que produzem a maioria dos antibióticos.

O surgimento da quimioterapia moderna é creditado aos esforços de Paul Ehrlich, na Alemanha, durante a primeira parte do século XX. Enquanto tentava corar bactérias sem corar os tecidos circundantes, ele especulava sobre alguma "bala mágica" que encontraria e destruiria patógenos de forma seletiva, porém sem afetar o hospedeiro. Esta é a ideia central da quimioterapia, termo que ele próprio cunhou.

Em 1928, Alexander Fleming observou que o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* foi inibido em uma área que circundava a colônia de um bolor que havia contaminado a placa de Petri (Figura 1.5, página 12). O bolor foi identificado como *Penicillium notatum,* e seu composto ativo, isolado logo em seguida, foi chamado de penicilina. Reações inibitórias semelhantes entre colônias em meio sólido são comumente observadas na microbiologia, e o mecanismo de inibição é chamado de *antibiose* (**Figura 20.1**). Dessa palavra surgiu o termo **antibiótico**, uma substância produzida por um micro-organismo que, em pequenas quantidades, pode inibir outros micro-organismos. Assim, as drogas Sulfa totalmente sintéticas, por exemplo, não são antibióticos do ponto de vista técnico, uma distinção com frequência ignorada na prática. A descoberta das drogas Sulfa por um grupo de cientistas industriais alemães, iniciada em 1927, surgiu de uma busca sistemática de substâncias químicas para a descoberta daquela que seria a "bala mágica". Em 1932, um composto denominado Vermelho de Prontosil (um corante contendo sulfanilamida) mostrou-se capaz de conter infecções estreptocócicas em camundongos. Descobriu-se mais tarde que o princípio ativo do composto era o componente sulfanilamida, e durante a Segunda Guerra Mundial os aliados fizeram intenso uso disso. A descoberta e o uso da sulfa tornaram claro que agentes antimicrobianos poderiam ser eficientes contra infecções bacterianas sistêmicas, o que fez ressurgir o interesse pelas descobertas anteriores sobre a penicilina.

Em 1940, um grupo de cientistas da Universidade de Oxford, liderado por Howard Florey e Ernst Chain, obteve sucesso no desenvolvimento do primeiro teste clínico da penicilina. Em tempos de guerra, no Reino Unido, pesquisas visando o desenvolvimento da produção em larga escala de penicilina não eram possíveis, de forma que essa tarefa fora transferida para os Estados Unidos. A cultura original de *P. notatum* (posteriormente renomeado para *Penicillium chrysogenum*) não era um produtor muito eficiente do antibiótico, sendo substituída, em seguida, por uma cepa mais prolífica. Esse valioso organismo foi isolado pela primeira vez a partir de um melão mofado, comprado em um mercado de Peoria, Illinois, Estados Unidos.

Hoje os antibióticos são relativamente fáceis de serem descobertos, mas poucos têm algum valor médico ou comercial. Alguns são usados comercialmente para outras funções que não o tratamento de doenças – por exemplo, como um suplemento na alimentação animal (veja o quadro na página 577).

Figura 20.1 **Observação laboratorial de antibióticos.** Qualquer pessoa, ao plaquear micro-organismos de ambientes naturais, especialmente do solo, com frequência verá exemplos de inibição bacteriana por antibióticos produzidos por bactérias, principalmente espécies do gênero *Streptomyces.*

P **Existiria alguma vantagem para um micróbio de solo em produzir um antibiótico?**

Mais da metade dos nossos antibióticos é produzida por espécies do gênero *Streptomyces*, bactérias filamentosas que comumente habitam o solo. Alguns poucos antibióticos são produzidos por bactérias formadoras de endosporos, como *Bacillus*, e outros são produzidos por bolores, a maioria sendo dos gêneros *Penicillium* e *Cephalosporium*. Para as fontes de muitos antibióticos atualmente em uso – um grupo de organismos bastante limitado – veja a **Tabela 20.1**. Um estudo analisou 400.000 culturas microbianas que geraram somente três drogas utilizáveis. É especialmente interessante notar que quase todos os micróbios produtores de antibióticos apresentam algum tipo de processo de esporulação.

A descoberta de antibióticos hoje

A maioria dos antibióticos em uso hoje foi descoberta por métodos que requeriam a identificação e o cultivo de colônias de organismos produtores de antibióticos, principalmente a partir da seleção de amostras provenientes do solo. De fato, a identificação de micróbios que possuem atividade antimicrobiana é relativamente fácil nessas amostras, no entanto, muitos são tóxicos e comercialmente inúteis. Além disso, muitos desses achados são ilusórios, e a continuação das pesquisas frequentemente resulta na descoberta dos mesmos antibióticos. A estreptomicina, por exemplo, é produzida por cerca de 1% de todos os actinomicetos isolados do solo. Por outro lado, descobrir um antibiótico produzido por apenas um micro-organismo do solo ou no mar dentre 10 milhões é uma tarefa difícil. Nesses casos, é necessária a utilização de *métodos de alto desempenho* para se analisar grandes quantidades de micróbios.

Tabela 20.1 Fontes representativas de antibióticos

Micro-organismo	Antibiótico
Bastonetes gram-positivos	
Bacillus subtilis	Bacitracina
Paenibacillus polymyxa	Polimixina
Actinomicetos	
Streptomyces nodosus	Anfotericina B
Streptomyces venezuelae	Cloranfenicol
Streptomyces aureofaciens	Clorotetraciclina e tetraciclina
Saccharopolyspora erythraea	Eritromicina
Streptomyces fradiae	Neomicina
Streptomyces griseus	Estreptomicina
Micromonospora purpurea	Gentamicina
Fungos	
Cephalosporium spp.	Cefalosporina
Penicillium griseofulvum	Griseofulvina
Penicillium chrysogenum	Penicilina

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Quem cunhou o termo "bala mágica"? **20-1**
- ✓ Mais da metade dos nossos antibióticos é produzida por certa espécie de bactéria. Qual seria ela? **20-2**

O espectro de atividade antimicrobiana

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

20-3 Descrever os problemas da quimioterapia contra infecções causadas por vírus, fungos, protozoários e helmintos.

20-4 Definir os seguintes termos: espectro de atividade, antibiótico de amplo espectro e superinfecção.

É comparativamente fácil descobrir ou desenvolver drogas efetivas contra células procarióticas e que não afetem as células eucarióticas dos seres humanos. Esses dois tipos celulares se diferenciam substancialmente de vários modos, como pela presença ou ausência de parede celular, pela estrutura fina de seus ribossomos e por detalhes de seus metabolismos. Assim, a toxicidade seletiva apresenta diversos alvos. O problema é mais complicado quando o patógeno é uma célula eucariótica como um fungo, um protozoário ou um helminto. Em nível celular, esses organismos se assemelham às células humanas muito mais que as células bacterianas. Veremos que nosso arsenal contra esses tipos de patógenos é mais limitado do que nosso arsenal de drogas antibacterianas. As infecções virais são particularmente difíceis de tratar porque o patógeno está dentro da célula do hospedeiro humano, e porque a informação genética do vírus direciona a célula humana a produzir mais vírus em vez de sintetizar materiais celulares normais.

Algumas drogas apresentam um **espectro restrito de atividade microbiana,** ou alcance de tipos microbianos diferentes que elas podem afetar. A penicilina G, por exemplo, afeta bactérias gram-positivas, mas poucas bactérias gram-negativas. Antibióticos que afetam amplamente vários tipos de bactérias gram-positivas ou gram-negativas são chamados de **antibióticos de amplo espectro.**

Um fator primário envolvido na toxicidade seletiva de ação antibacteriana reside na camada externa de lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas e nas porinas, que formam canais aquosos através dessa camada (veja a Figura 4.13c, página 86). Drogas que atravessam os canais de porinas precisam ser relativamente pequenas e preferencialmente hidrofílicas. Drogas que são lipofílicas (apresentam afinidade por lipídeos) ou muito grandes não conseguem penetrar imediatamente em uma bactéria gram-negativa.

A **Tabela 20.2** resume o espectro de atividade de várias drogas quimioterápicas. Uma vez que a identidade de um patógeno nem sempre é imediatamente reconhecida, uma droga de amplo espectro poderia ser vantajosa no tratamento de uma doença por poupar um tempo precioso. No entanto, a desvantagem é que essas drogas destroem também grande parte da microbiota normal do hospedeiro. A microbiota normal compete com patógenos e outros micróbios e limita seu crescimento. Se o antibiótico não destrói certos organismos na microbiota normal, mas elimina seus competidores, os sobreviventes podem proliferar e se tornar patógenos oportunistas. Um exemplo que ocorre eventualmente é o crescimento acentuado da levedura *Candida albicans*, a qual não é sensível a antibióticos bacterianos. Esse crescimento acentuado é chamado de **superinfecção**, termo também aplicado ao crescimento de um patógeno-alvo que desenvolveu resistência a um antibiótico. Nessa situação, essa cepa resistente ao antibiótico substituirá a cepa sensível, e a infecção permanece.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Identifique pelo menos uma razão que justifique porque é tão difícil atacar um vírus patogênico sem danificar a célula hospedeira. **20-3**
- ✓ Por que antibióticos com espectro de atividade muito amplo podem não ser tão úteis quanto se imagina a princípio? **20-4**

Ação das drogas antimicrobianas

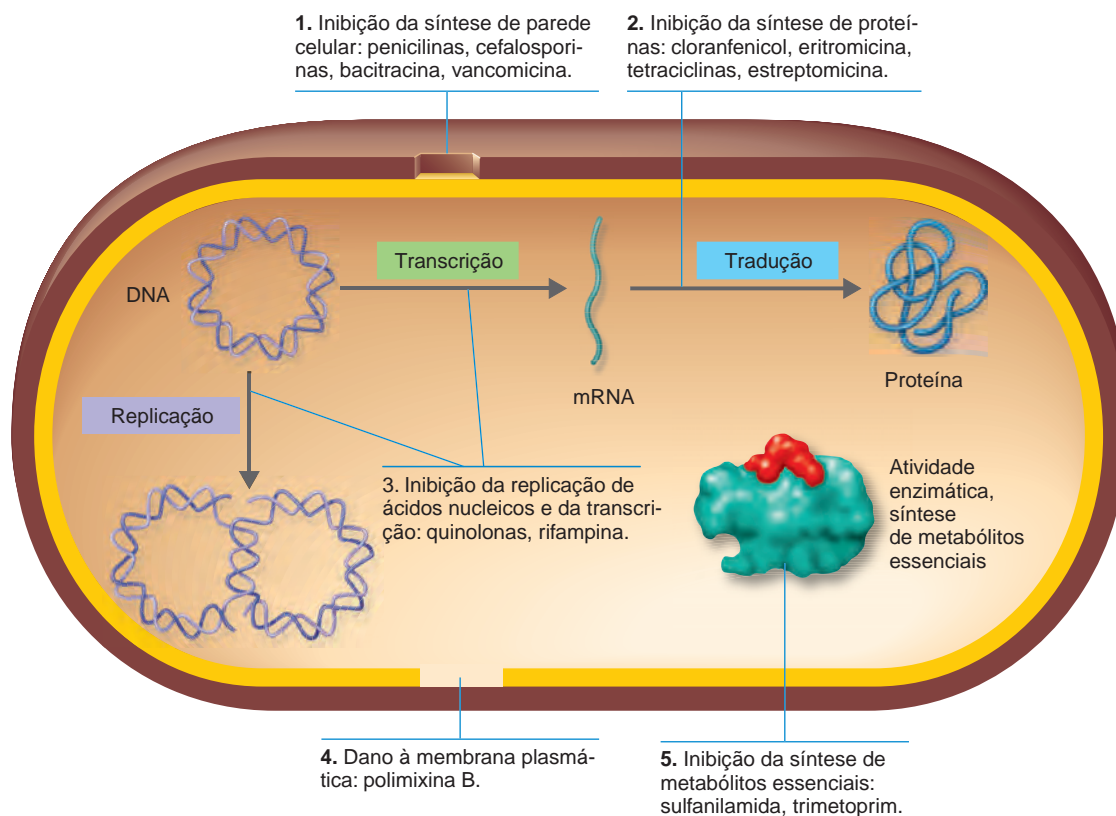
OBJETIVO DO APRENDIZADO

20-5 Identificar cinco modos de ação de drogas antimicrobianas.

As drogas antimicrobianas podem ser **bactericidas** (matam os micróbios diretamente) ou **bacteriostáticas** (impedem o crescimento dos micróbios). Na bacteriostase, as próprias defesas do hospedeiro, como a fagocitose e a produção de anticorpos, normalmente destroem o micro-organismo. Os modos de ação principais estão resumidos na **Figura 20.2.**

Figura 20.2

FIGURA FUNDAMENTAL Principais modos de ação das drogas antimicrobianas

Esta figura ilustra os cinco modos de ação de antibióticos que serão discutidos em detalhe neste capítulo. O espectro de atividade limitado de cada antibiótico é importante para a compreensão da aplicação apropriada de diferentes drogas e dos mecanismos de resistência antibiótica.

Conceito-chave

As drogas antimicrobianas podem funcionar de cinco modos: inibição da síntese de parede celular, inibição da síntese de proteínas, inibição da síntese de ácidos nucleicos, dano à membrana plasmática ou inibição da síntese de metabólitos essenciais.

Inibição da síntese de parede celular

A penicilina, o primeiro antibiótico a ser descoberto e utilizado (não se considerando as sulfas), é um inibidor da síntese de parede celular.

P&R Lembre-se do Capítulo 4 que a parede celular de uma bactéria consiste em uma rede de macromoléculas chamada de peptideoglicano. O peptideoglicano é encontrado apenas na parede celular bacteriana. Penicilina e alguns outros antibióticos previnem a síntese de peptideoglicanos intactos; consequentemente, a parede celular fica enfraquecida, e a célula sofre lise (Figura 20.3).

Uma vez que a penicilina age sobre o processo de síntese, somente células que estejam crescendo ativamente são afetadas por esses antibióticos – e, devido ao fato de que as células humanas não possuem parede celular constituída por peptideoglicano, a penicilina apresenta pouca toxicidade para as células do hospedeiro.

Inibição da síntese proteica

Como a síntese de proteínas é comum a todas as células, sejam procarióticas ou eucarióticas, esse processo pareceria um alvo improvável para a toxicidade seletiva. Entretanto, uma diferença notável

Tabela 20.2 O espectro de atividade de antibióticos e outras drogas antimicrobianas

Procariotos				*Eucariotos*			
Micobactérias*	**Bactérias gram-negativas**	**Bactérias gram-positivas**	**Clamídias, Ricketsias**[†]	**Fungos**	**Protozoários**	**Helmintos**	**Vírus**
		Penicilina G ←→		Cetoconazol ←→		Niclosamida (solitárias) ←→	
Estreptomicina ←→	←→				Mefloquina (malária) ←→		
							Aciclovir ←→
						Praziquantel (fascíolas) ←→	
	Tetraciclina ←→	←→	←→				
Isoniazida ←→							

*O crescimento dessas bactérias frequentemente ocorre dentro de macrófagos ou estruturas teciduais.
[†]Bactérias intracelulares obrigatórias.

entre procariotos e eucariotos é a estrutura de seus ribossomos. Como discutido no Capítulo 4 (página 95), as células eucarióticas possuem ribossomos 80S; as células procarióticas têm ribossomos 70S (o ribossomo 70S é constituído pelas unidades 50S e 30S. A abreviatura S significa unidade Svedberg, que descreve a taxa de sedimentação relativa em uma centrífuga de alta velocidade). A diferença na estrutura ribossômica é a razão da toxicidade seletiva dos antibióticos que afetam a síntese de proteínas. Entretanto, as mitocôndrias (importantes organelas eucarióticas) também contêm ribossomos 70S semelhantes aos bacterianos. Dessa forma, antibióticos que afetam os ribossomos 70S podem causar efeitos adversos nas células do hospedeiro. Entre os antibióticos que interferem com a síntese de proteínas estão o cloranfenicol, a eritromicina, a estreptomicina e as tetraciclinas (**Figura 20.4**).

(a) Bactéria em forma de bastonete antes do uso da penicilina. MEV 1 μm

(b) Lise da célula bacteriana após o enfraquecimento da parede celular pela penicilina. MEV 1 μm

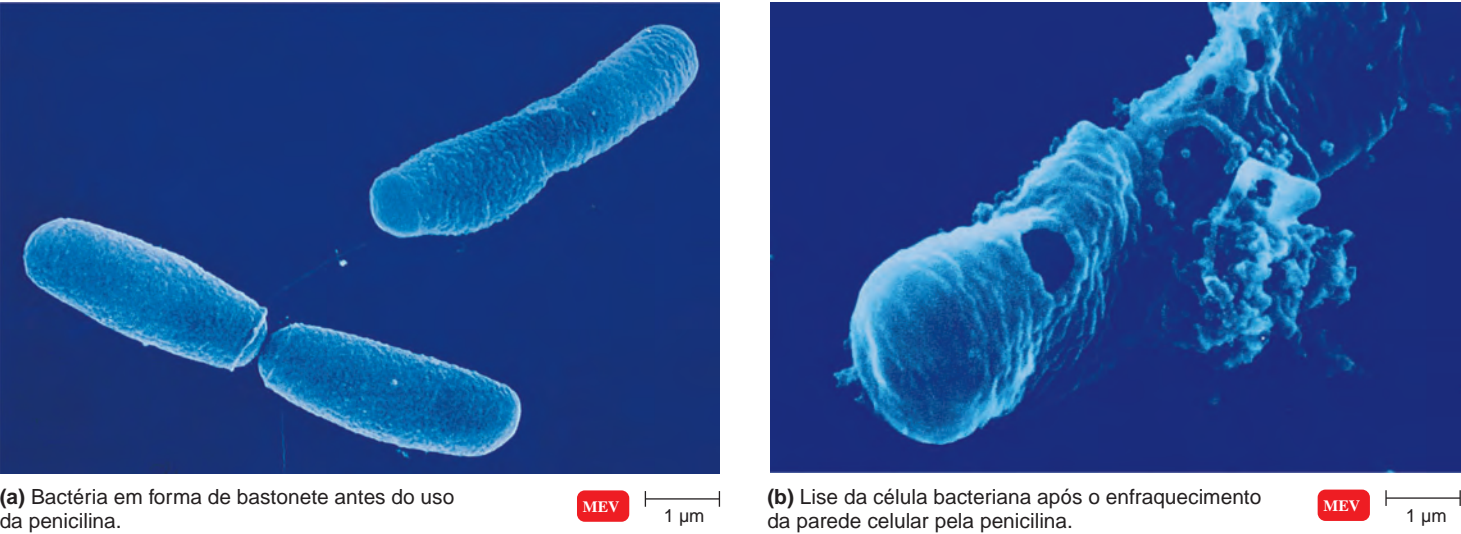



Figura 20.3 Inibição da síntese celular bacteriana pela penicilina.

P Por que as penicilinas não afetam as células humanas?

(a) Detalhe tridimensional da síntese de proteínas mostrando as subunidades 30S e 50S do ribossomo 70S procariótico

(b) Diagrama indicando os diferentes pontos onde o cloranfenicol, as tetraciclinas e a estreptomicina exercem suas atividades

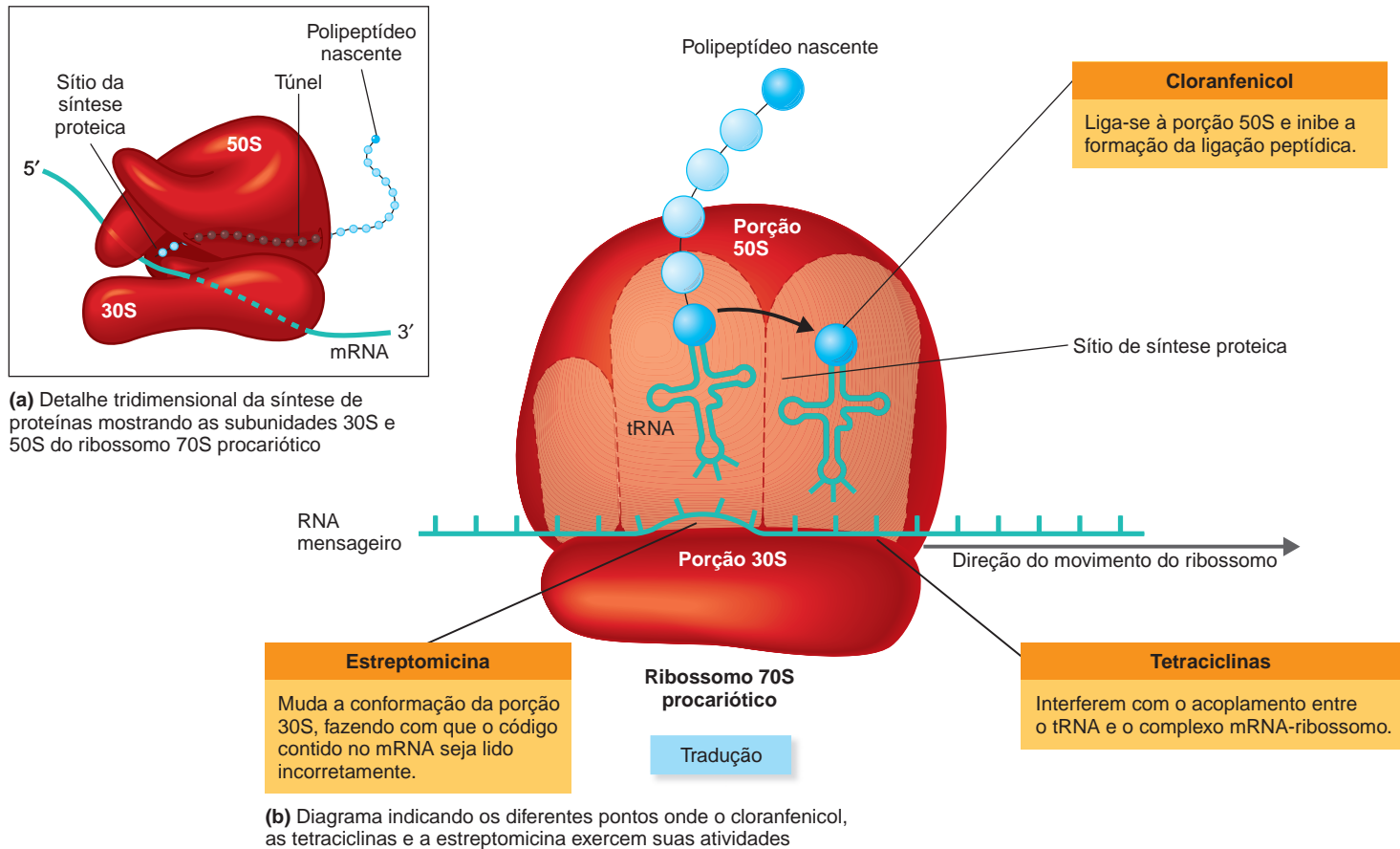



Figura 20.4 A inibição da síntese proteica por antibióticos. (a) O detalhe mostra como o ribossomo procariótico 70S é montado a partir de duas subunidades, 30S e 50S. Perceba como a cadeia polipeptídica nascente atravessa um túnel na subunidade 50S do sítio de síntese de proteínas. **(b)** O diagrama mostra os diferentes pontos onde o cloranfenicol, as tetraciclinas e a estreptomicina exercem suas atividades.

P Por que os antibióticos que inibem a síntese proteica afetam as bactérias, mas não as células humanas?

Dano à membrana plasmática

Certos antibióticos, especialmente aqueles compostos por polipeptídeos, induzem mudanças na permeabilidade da membrana plasmática; essas mudanças resultam na perda de metabólitos importantes pela célula microbiana.

Algumas drogas antifúngicas, como a anfotericina B, o miconazol e o cetoconazol, são eficientes contra uma gama considerável de doenças fúngicas. Essas drogas se combinam com esteróis na membrana plasmática dos fungos e danificam a membrana (**Figura 20.5**). Uma vez que membranas plasmáticas bacterianas geralmente não possuem esteróis, esses antibióticos não apresentam ação contra bactérias.

Inibição da síntese de ácidos nucleicos

Vários antibióticos interferem nos processos de replicação de DNA e transcrição em micro-organismos. Algumas drogas com essa atividade apresentam utilidade limitada, uma vez que também interferem no metabolismo de DNA e RNA de mamíferos.

Inibição da síntese de metabólitos essenciais

No Capítulo 5, mencionamos que uma atividade enzimática específica de um micro-organismo pode ser *inibida competitivamente* por uma substância (*antimetabólito*) que se assemelha muito ao substrato normal da enzima (veja a Figura 5.7, página 120). Um exemplo de inibição competitiva é a relação entre o antimetabólito sulfanilamida (uma droga sulfa) e o **ácido paraminobenzoico** (**PABA**). Em muitos micro-organismos, PABA é o substrato de uma reação enzimática que leva à produção de ácido fólico, uma vitamina que funciona como coenzima para a síntese de bases purínicas e pirimidínicas de ácidos nucleicos e de muitos aminoácidos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual função celular é inibida pelas tetraciclinas? **20-5**

Figura 20.5 Dano à membrana plasmática de uma célula de levedura causado por uma droga antifúngica. A célula perde seu conteúdo citoplasmático quando a membrana plasmática é degradada pela droga antifúngica miconazol.

P Muitas drogas antifúngicas se combinam com esteróis na membrana plasmática. Por que não se combinam com esteróis nas membranas de células humanas?

Análise das drogas antimicrobianas comumente utilizadas

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

20-6 Explicar por que as drogas descritas nesta seção são específicas para bactérias.

20-7 Listar as vantagens de cada uma das seguintes drogas sobre a penicilina: penicilinas semissintéticas, cefalosporinas e vancomicina.

20-8 Explicar por que isoniazida (INH) e etambutol são agentes antimicobacterianos.

20-9 Descrever como cada uma das seguintes drogas inibe a síntese proteica: aminoglicosídeos, tetraciclinas, cloranfenicol, macrolídeos.

20-10 Comparar os modos de ação da polimixina B, da bacitracina e da neomicina.

20-11 Descrever como rifamicinas e quinolonas matam bactérias.

20-12 Descrever como drogas sulfa inibem o crescimento microbiano.

20-13 Explicar os modos de ação de drogas antifúngicas comumente usadas.

20-14 Explicar os modos de ação de drogas antivirais comumente usadas.

20-15 Explicar os modos de ação de drogas antiprotozoóticas e anti-helmínticas comumente usadas.

As **Tabelas 20.3** (páginas 562 e 563) e **20.4** (página 564) resumem as drogas antimicrobianas comumente utilizadas.

Antibióticos antibacterianos: inibidores da síntese de parede celular

Para que um antibiótico funcione como uma "bala mágica", ele geralmente precisa afetar estruturas ou funções microbianas diferentes de estruturas e funções de mamíferos. Como descrito no Capítulo 4, a célula eucariótica de um mamífero não possui parede celular, possuindo apenas uma membrana plasmática. Até mesmo essa membrana difere em composição da membrana plasmática de células procarióticas. Por essa razão, a parede celular microbiana é um atraente alvo para a ação de antibióticos.

Penicilina

O termo **penicilina** se refere a um grupo que engloba mais de 50 antibióticos quimicamente relacionados (**Figura 20.6**). Todas as penicilinas apresentam uma estrutura central comum, contendo um anel β-lactâmico, chamada de núcleo. Moléculas de penicilina se diferenciam pelas cadeias laterais conectadas aos seus núcleos. As penicilinas podem ser produzidas de forma natural ou semissintética. Elas impedem a ligação cruzada entre peptideoglicanos, o que interfere nos estágios finais da construção das paredes celulares, principalmente de bactérias gram-positivas (veja a Figura 4.13a, página 86).

Penicilinas naturais. Penicilinas extraídas de culturas do bolor *Penicillium* existem sob diversas formas muito relacionadas. Elas são chamadas de **penicilinas naturais** (**Figura 20.6a**). O composto prototípico de todas as penicilinas é a penicilina G. Ela possui um espectro de atividade bastante restrito, porém muito útil, sendo com frequência a droga de escolha no tratamento contra estreptococos, estafilococos e diversas espiroquetas. Quando inoculada por injeção intramuscular, a penicilina G é rapidamente excretada do organismo dentro de 3 a 6 horas (**Figura 20.7**). Quando administrada oralmente, a acidez dos fluidos digestivos no estômago diminui sua concentração. A *penicilina procaína*, uma combinação das drogas procaína e penicilina G, é retida no organismo em concentrações detectáveis por até 24 horas, com o pico de concentração ocorrendo em quatro horas. Tempos de retenção ainda mais longos podem ser alcançados com o uso da *penicilina benzatina*, uma combinação de benzatina e penicilina G. Embora tempos de retenção de até quatro meses possam ser obtidos, a concentração da droga é tão baixa que os micro-organismos precisam ser muito sensíveis à ela. A penicilina V, que é estável na acidez estomacal e pode ser administrada oralmente, e a penicilina G são as penicilinas naturais utilizadas com mais frequência.

Penicilinas naturais apresentam algumas desvantagens. As principais são o seu estreito espectro de atividade e sua suscetibilidade a penicilinases. *Penicilinases* são enzimas produzidas por muitas bactérias, mais notadamente espécies de estafilococos, que clivam o anel β-lactâmico da molécula de penicilina (**Figura 20.8**). Devido a essa característica, as penicilinases são às vezes chamadas de β-*lactamases*.

(a) Penicilinas naturais

Núcleo comum

Penicilina G (requer injeção)

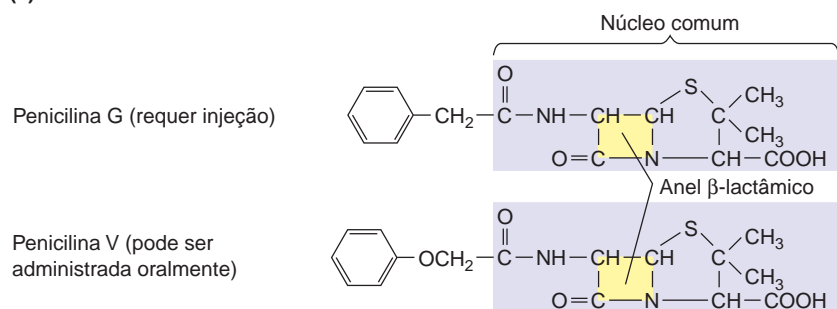
Penicilina V (pode ser administrada oralmente)

Anel β-lactâmico

Figura 20.6 A estrutura das penicilinas, antibióticos antibacterianos. A porção que todas as penicilinas têm em comum – contendo o anel β-lactâmico – está sombreada em roxo. As porções não sombreadas representam as cadeias laterais que distinguem uma penicilina da outra.

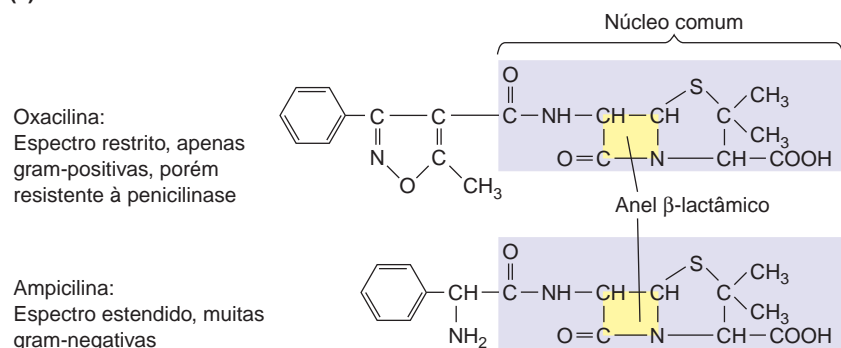
P Qual o significado do termo *semissintético*?

(a) Penicilinas semissintéticas

Núcleo comum

Oxacilina: Espectro restrito, apenas gram-positivas, porém resistente à penicilinase

Ampicilina: Espectro estendido, muitas gram-negativas

Anel β-lactâmico

Penicilinas semissintéticas. Um grande número de **penicilinas semissintéticas** tem sido desenvolvido como tentativa de superar as desvantagens das penicilinas naturais (**Figura 20.6b**). Os cientistas desenvolvem essas penicilinas de duas maneiras. Primeiro, é possível interromper a síntese de uma molécula de penicilina e obter apenas o núcleo comum das penicilinas para ser utilizado. Segundo, é possível remover as cadeias laterais de moléculas naturais completas e, em seguida, adicionar outras cadeias laterais que as tornem mais resistentes a penicilinases ou ampliem seu espectro de ação. Daí o termo *semissintético*, em que parte da penicilina é produzida pelo bolor e parte é adicionada sinteticamente.

Penicilinas resistentes a penicilinases. A resistência de infecções estafilocócicas ao tratamento com penicilinas logo se tornou um problema devido ao gene da β-lactamase codificado em plasmídeos. Antibióticos que eram relativamente resistentes a essa enzima, como a penicilina semissintética *meticilina*, foram introduzidos na prática clínica, mas a resistência a eles também surgiu rapidamente. O organismo que apresenta essa resistência é chamado de ***Staphylococcus aureus*** **resistente à meticilina** (**MRSA**, de *Methicillin-Resistant Staphilococcus Aureus*) (veja o quadro na página 593).

A resistência se tornou tão prevalente que o uso de meticilina foi descontinuado em alguns países, como nos Estados Unidos. O

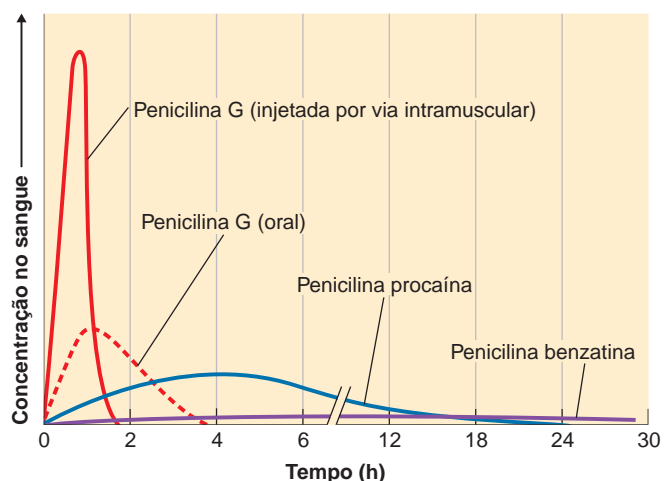



Figura 20.7 Retenção da penicilina G. A penicilina G normalmente é injetada (linha vermelha sólida); quando administrada por essa via, a droga se apresenta em altas concentrações no sangue, porém é eliminada rapidamente. Quando tomada oralmente (linha vermelha pontilhada), a penicilina G é destruída pelos ácidos estomacais e não é muito eficiente. É possível melhorar a retenção da penicilina G ao combiná-la com outros compostos, como a procaína e a benzatina (linhas azuis e roxas). Entretanto, a concentração sanguínea alcançada é baixa, e a bactéria-alvo precisa ser extremamente sensível ao antibiótico.

P Como a concentração baixa de penicilina G pode induzir a seleção de bactérias resistentes à penicilina?

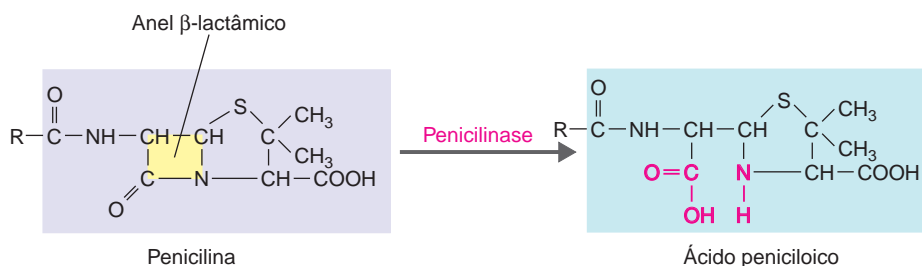
Anel β-lactâmico

Penicilinase

Penicilina

Ácido peniciloico

Figura 20.8 O efeito da penicilinase sobre as penicilinas. A produção bacteriana dessa enzima, quebrando o anel β-lactâmico no diagrama ao lado, é a forma de resistência a penicilinas mais comum. R é uma abreviação para os grupos das cadeias laterais que acabam por diferenciar compostos que, de outra forma, seriam similares ou idênticos

P O que é penicilinase?

termo acabou sendo aplicado a cepas bacterianas que desenvolveram resistência a várias penicilinas e cefalosporinas, incluindo outros antibióticos resistentes a penicilinases, como a *oxacilina*, e aquelas combinadas a inibidores de β-lactamases (discutido a seguir). Veja a discussão sobre resistência a antibióticos na página 573.

Penicilinas de espectro estendido. Com o objetivo de resolver o problema do espectro restrito de atividade das penicilinas naturais, penicilinas semissintéticas de amplo espectro foram desenvolvidas. Essas novas penicilinas são eficientes contra muitas bactérias gram-negativas e também contra gram-positivas, embora elas não sejam resistentes a penicilinases. As primeiras penicilinas dessa categoria foram as aminopenicilinas, como a *ampicilina* e a *amoxicilina*. Quando a resistência bacteriana a elas se tornou comum, as carboxipenicilinas foram desenvolvidas. Membros desse grupo, que inclui a *carbenicilina* e a *ticarcilina*, apresentam maior atividade contra bactérias gram-negativas e possuem a especial vantagem de ser ativos contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Entre as adições mais recentes à família das penicilinas estão as ureidopenicilinas, que incluem a *mezlocilina* e a *azlocilina*. Essas penicilinas de amplo espectro são resultantes da modificação da estrutura da ampicilina. Entretanto, a busca por modificações ainda mais eficientes na penicilina continua.

Penicilinas mais inibidores de β-lactamase. Uma abordagem diferente para combater a proliferação da penicilinase é a combinação de penicilinas com *clavulanato de potássio* (*ácido clavulânico*), uma substância produzida por um estreptomiceto. O clavulanato de potássio é um inibidor não competitivo da penicilinase sem qualquer ação antimicrobiana própria. Atualmente, a droga tem sido combinada com algumas novas penicilinas de amplo espectro, como a *amoxicilina* (a combinação é melhor conhecida por seu nome comercial: Augmentin).

Carbapenemos

Os **carbapenemos** formam uma classe de antibióticos β-lactâmicos em que um átomo de carbono é substituído por um átomo de enxofre, e uma ligação dupla é adicionada ao núcleo da penicilina. Esses antibióticos, que inibem a síntese de parede celular, possuem um espectro de ação extremamente amplo. Um representante desse grupo é a Primaxina, uma combinação de *imipenem* e *cilastatina* sódica. A cilastatina não possui atividade antimicrobiana intrínseca, porém previne a degradação da combinação nos rins. Testes têm demonstrado que a Primaxina é ativa contra 98% de todos os organismos isolados de pacientes hospitalizados.

Monobactamos

Outro método de evitar os efeitos da penicilinase é amostrado pelo *aztreonam*, que é o primeiro membro de uma nova classe de antibióticos. Trata-se de um antibiótico sintético que possui apenas um anel simples do convencional anel duplo dos antibióticos β-lactâmicos, sendo conhecido, portanto, como **monobactamo**. O espectro de atividade do aztreonam é surpreendente para um composto relacionado à penicilina. Esse antibiótico, que possui toxicidade notavelmente baixa, afeta apenas certos tipos de bactérias gram-negativas, incluindo pseudomonas e *E. coli*.

Cefalosporinas

Em termos estruturais, o núcleo das **cefalosporinas** é semelhante ao das penicilinas (Figura 20.9). As cefalosporinas inibem a síntese de parede celular de forma essencialmente similar à ação das penicilinas. Elas são mais utilizadas que qualquer outro antibiótico β-lactâmico. O anel β-lactâmico das cefalosporinas difere um pouco daquele das penicilinas, porém as bactérias já desenvolveram β-lactamases que são capazes de inativá-lo.

O agrupamento diferencial das cefalosporinas é mais comumente feito pela referência às gerações do medicamento, o que reflete seu contínuo desenvolvimento. As cefalosporinas de primeira geração têm um espectro de ação relativamente restrito, em especial contra bactérias gram-positivas. Um exemplo nesse grupo é a *cefalotina.* As cefalosporinas de segunda geração possuem um espectro

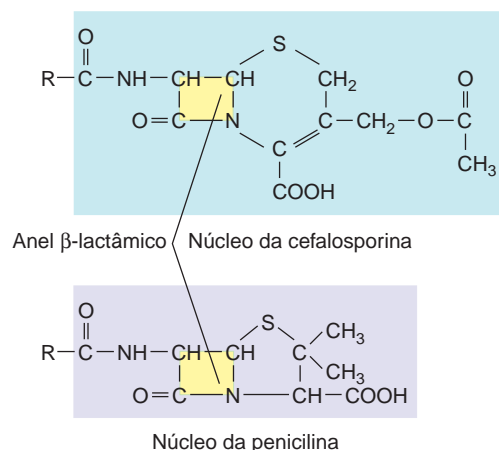



Figura 20.9 Comparação das estruturas nucleares da cefalosporina e da penicilina.

P Uma β-lactamase efetiva contra a penicilina G seria eficiente contra a cefalosporina?

Tabela 20.3 Drogas antibacterianas

Drogas agrupadas de acordo com o mecanismo de ação	Comentários
INIBIDORES DA SÍNTESE DE PAREDE CELULAR	
Penicilinas naturais	
Penicilina G	Contra bactérias gram-negativas; requer injeção
Penicilina V	Contra bactérias gram-positivas; administração oral
Penicilinas semissintéticas	
Oxacilina	Resistente à penicilinase
Ampicilina	Amplo espectro
Amoxicilina	Amplo espectro; combinada com um inibidor de penicilinase
Aztreonam	Um monobactamo; eficiente contra bactérias gram-negativas, inclusive *Pseudomonas* spp.
Imipenem	Um carbapenemo; espectro de ação muito amplo
Cefalosporinas	
Cefalotina	Cefalosporina de primeira geração; atividade similar à penicilina; requer injeção
Cefixima	Cefalosporina de quarta geração; administração oral
Antibióticos polipeptídicos	
Bacitracina	Contra bactérias gram-positivas; aplicação tópica
Vancomicina	Um tipo glicopeptídico; resistente à penicilinase; contra bactérias gram-positivas
Antibióticos antimicobacterianos	
Isoniazida	Inibe a síntese de ácido micólico, um componente da parede celular de *Mycobacterium* spp.
Etambutol	Inibe a incorporação de ácido micólico na parede celular de *Mycobacterium* spp.
INIBIDORES DE SÍNTESE PROTEICA	
Cloranfenicol	Amplo espectro de ação; potencialmente tóxico
Aminoglicosídeos	
Estreptomicina	Amplo espectro de ação, incluindo micobactérias
Neomicina	Uso tópico; amplo espectro de ação
Gentamicina	Amplo espectro de ação, incluindo *Pseudomonas* spp.
Tetraciclinas	
Tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina	Amplo espectro de ação, incluindo clamídias e rickétsias; aditivo de rações animais
Macrolídeos	
Eritromicina	Alternativa à penicilina
Azitromicina, claritromicina	Semissintéticos; espectro de ação mais amplo e penetração tecidual superior à eritromicina
Telitromicina (Ketek)	Nova geração de macrolídeos semissintéticos, usados para combater a resistência a outros macrolídeos
Estreptograminas	
Quinupristina e dalfopristina (Synercid)	Alternativa ao tratamento de infecções causadas por bactérias gram-positivas resistentes à vancomicina
Oxazolidinonas	
Linezolida (Zyvox)	Útil principalmente contra bactérias gram-positivas resistentes à penicilina
DANO À MEMBRANA PLASMÁTICA	
Polimixina B	Uso tópico; bactérias gram-negativas, incluindo *Pseudomonas* spp.
INIBIDORES DA SÍNTESE DE ÁCIDOS NUCLEICOS	
Rifamicinas	
Rifampina (ou rifampicina)	Inibe a síntese de mRNA; tratamento de tuberculose

Tabela 20.3 (*Continuação*)

Drogas agrupadas de acordo com o mecanismo de ação	Comentários
Quinolonas e fluoroquinolonas	
Ácido nalidíxico, norfloxacina, cipofloxacina	Inibem a síntese de DNA; amplo espectro de ação; infecções do trato urinário
Gatifloxacina	Quinolonas da geração mais nova; potência aumentada contra bactérias gram-positivas
INIBIDORES COMPETITIVOS DA SÍNTESE DE METABÓLITOS ESSENCIAIS	
Sulfonamidas	
Trimetoprim-sulfametoxazol	Amplo espectro de ação; a combinação é muito utilizada

mais estendido. Exemplos incluem a droga de administração endovenosa *cefamandole* e o antibiótico oral *cefaclor*. As drogas de terceira geração, como a *ceftazidima*, são as mais ativas contra bactérias gram-negativas, incluindo algumas pseudomonas, porém a maioria é injetável. Uma cefalosporina de terceira geração administrada oralmente é a *cefixima*. As drogas de quarta geração, como a *cefepima*, requerem injeção, mas em contrapartida apresentam o espectro de atividade mais amplo.

Antibióticos polipeptídicos

Bacitracina. A *bacitracina* (cujo nome é derivado de sua origem, uma bactéria do gênero *Bacillus* isolada do ferimento de uma menina chamada *Tracy*) é um antibiótico polipeptídico efetivo em especial contra bactérias gram-positivas, incluindo estafilococos e estreptococos. A bacitracina inibe a síntese de parede celular bacteriana em uma fase anterior àquela em que a penicilina e a cefalosporina agem. A droga interfere na síntese de fitas lineares de peptideoglicanos (veja a Figura 4.13a, página 86). Seu uso é limitado à aplicação tópica para infecções superficiais.

Vancomicina. A *vancomicina* (cujo nome é derivado da palavra inglesa *vanquish**), é uma das drogas de um pequeno grupo de antibióticos glicopeptídicos derivados de uma espécie de *Streptomyces* encontrada nas selvas de Borneo. Originalmente, a toxicidade da vancomicina era uma desvantagem séria, porém processos melhorados de purificação durante sua manufatura têm corrigido o problema. Embora tenha um espectro de atividade bastante restrito, com base na inibição da síntese de parede celular, a vancomicina tem sido muito importante no que diz respeito ao problema do MRSA (veja a página 560). A vancomicina vem sendo considerada a última linha de defesa antibiótica no caso do tratamento de infecções por *Staphylococcus aureus* resistentes a outros antibióticos. No entanto, o amplo uso da vancomicina no tratamento do MRSA levou ao surgimento de **enterococos resistentes a vancomicina** (**VREs**, de *Vancomycin-Resistant enterococci*). Eles são patógenos gram-positivos, oportunistas e particularmente problemáticos em ambientes hospitalares (veja a página 319 e o quadro na página 593). O surgimento de patógenos resistentes à vancomicina, deixando poucas alternativas efetivas disponíveis, é considerado uma emergência médica.

* N. de T. *Vanquish* significa conquistar, ser vitorioso, vencer.

Antibióticos antimicobacterianos

A parede celular de membros do gênero *Mycobacterium* difere da parede celular da maioria das outras bactérias. Ela incorpora ácidos micólicos, que são um fator diferencial em suas propriedades de coloração, fazendo com que seja ácido-resistente (página 70). O gênero inclui importantes patógenos, como aqueles que causam a tuberculose e a lepra.

A **isoniazida (INH)** é uma droga antimicrobiana sintética altamente eficiente contra *Mycobacterium tuberculosis*. O efeito principal da INH é a inibição da síntese de ácido micólico, um componente da parede celular encontrado apenas em micobactérias. Ela tem pouco efeito sobre bactérias de outros gêneros. Quando utilizada no tratamento da tuberculose, a INH em geral é administrada juntamente com outras drogas, como a rifampina (também conhecida como rifampicina) ou o etambutol. Esse cuidado minimiza o desenvolvimento de resistência a drogas. Devido ao fato de que o bacilo da tuberculose normalmente é encontrado apenas no interior de macrófagos ou profundamente inserido em tecidos, qualquer droga antimicobacteriana precisa ser capaz de penetrar esses sítios.

O **etambutol** é uma droga efetiva apenas contra micobactérias. Aparentemente, a droga inibe a incorporação de ácido fenólico à parede celular. Por ser uma droga antimicobacteriana relativamente fraca, seu principal uso é como droga secundária para evitar problemas de resistência.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Um dos grupos de drogas de maior índice de sucesso tem como alvo a síntese de parede celular bacteriana. Por que esses antibióticos não afetam as células de mamíferos? **20-6**
- ✓ Que fenômeno levou ao desenvolvimento dos primeiros antibióticos semissintéticos, como a meticilina? **20-7**
- ✓ Em qual gênero bacteriano encontramos ácido micólico na parede celular? **20-8**

Inibidores da síntese proteica

Cloranfenicol

O *cloranfenicol* inibe a formação de ligações peptídicas nas cadeias nascentes de polipeptídeos pela reação com a porção 50S do ribossomo procarioto 70S. Como sua estrutura é relativamente

Tabela 20.4 Drogas antifúngicas, antivirais, antiprotozoóticas e anti-helmínticas

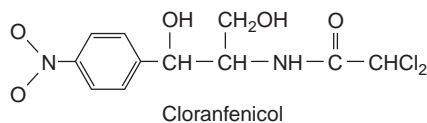
	Modo de ação	Comentários
DROGAS ANTIFÚNGICAS		
Agentes que afetam esteróis fúngicos (membrana plasmática)		
Polienos		
Anfotericina B	Dano à membrana plasmática	Infecções fúngicas sistêmicas
Azóis		
Clotrimazol, miconazol	Inibição da síntese da membrana plasmática	Uso tópico
Cetoconazol	Inibição da síntese da membrana plasmática	Pode ser administrado oralmente no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas
Voriconazol	Inibição da síntese da membrana plasmática	Pode penetrar na barreira hematoencefálica no tratamento de aspergiloses do sistema nervoso central
Alilaminas		
Terbinafina, naftifina	Inibição da síntese da membrana plasmática	Nova classe de antifúngicos frequentemente usada para tratar doenças resistentes aos azóis
Agentes que afetam as paredes celulares fúngicas		
Equinocandinas		
Caspofungina (cancidas)	Nova classe de antifúngicos que inibe a síntese de parede celular	
Agentes que inibem a síntese de ácidos nucleicos		
Flucitosina	Inibição da síntese de RNA e, portanto, da síntese de proteínas	
Outras drogas antifúngicas		
Griseofulvina	Inibição dos microtúbulos mitóticos	Infecções fúngicas da pele
Tolnaftato	Desconhecido	Pé-de-atleta
DROGAS ANTIVIRAIS		
Análogos de nucleosídeos e nucleotídeos		
Aciclovir, ganciclovir, ribavirina, lamivudina	Inibição da síntese de DNA e RNA	Usados principalmente contra herpesvírus
Cidofovir	Inibição da síntese de DNA e RNA	Infecções por citomegalovírus; possivelmente eficaz contra varíola
Adefovir dipivoxil (Hepsera)	Inibidor competitivo da transcriptase reversa do HBV	No caso de resistência à lamivudina
Adsorção e desnudamento		
Zanamivir, oseltamivir	Inibição da neuraminidase do vírus Influenza	Tratamento de Influenza
Amantadina, zimantadina	Inibição do desnudamento	Tratamento de Influenza
Interferons		
Interferon-α	Inibição da infecção de novas células pelo vírus	Hepatite viral
DROGAS ANTIPROTOZOÓTICAS		
Cloroquina	Inibição da síntese de DNA	Malária; eficaz apenas durante o estágio eritrocítico
Diiodo-hidroxiquina	Desconhecido	Infecções por amebas; amebicida
Metronidazol, tinidazol	Interferência no metabolismo aeróbico	Giardíase, amebíase, tricomoníase
Nitazoxanida	Interferência no metabolismo anaeróbico	Giardíase; droga aprovada somente para tratamento de criptosporidiose
DROGAS ANTI-HELMÍNTICAS		
Niclosamida	Prevenção da geração de ATP nas mitocôndrias	Infecções por solitárias; mata solitárias
Praziquantel	Alteração da permeabilidade de membranas plasmáticas	Infecções por solitárias e fascíolas; mata platelmintos
Pamoato de pirantel	Bloqueio neuromuscular	Nematelmintos intestinais; mata nematelmintos
Mebendazol, albendazol	Inibição da adsorção de nutrientes	Nematelmintos intestinais
Ivermectina	Paralisação do verme	Principalmente nematelmintos intestinais; ocasionalmente usada no tratamento de sarna, ácaros e piolhos

Cloranfenicol

Figura 20.10 A estrutura do antibiótico antibacteriano cloranfenicol. Note a estrutura simples da molécula, o que torna sua síntese mais vantajosa do que isolá-la de *Streptomyces*.

P Que efeito a ligação do cloranfenicol à porção 50S do ribossomo causa em uma célula?

Figura 20.11 A estrutura do antibiótico antibacteriano tetraciclina. Outros antibióticos semelhantes à tetraciclina compartilham a mesma estrutura de quatro anéis cíclicos, sendo, portanto, muito semelhantes.

P Como as tetraciclinas afetam a célula bacteriana?

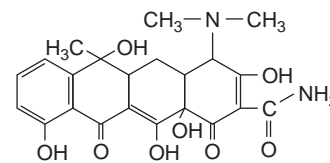
simples (**Figura 20.10**), é mais vantajoso para a indústria farmacêutica sintetizá-lo quimicamente do que isolá-lo de *Streptomyces*. O antibiótico é relativamente barato e tem um amplo espectro de ação, de forma que é utilizado com frequência quando baixos custos são essenciais.

O pequeno tamanho molecular promove sua difusão para áreas do corpo normalmente inacessíveis a muitas drogas. Entretanto, o cloranfenicol causa sérios efeitos adversos, sendo o mais importante a supressão da atividade da medula óssea, o que afeta a formação de células do sangue. Em cerca de 1 a cada 40.000 usuários, a droga parece causar anemia aplástica, uma condição potencialmente fatal. A taxa normal de ocorrência dessa condição é de 1 em cada 500.000 indivíduos. Os médicos são aconselhados a não utilizar a droga em condições triviais ou em circunstâncias quando outras drogas alternativas estão disponíveis.

Outros antibióticos que inibem a síntese proteica pela ligação ao mesmo sítio ribossômico atacado pelo cloranfenicol são a *clindamicina* e o *metronidazol* (veja a página 471). Essas drogas não são estruturalmente relacionadas, mas apresentam potente atividade anaeróbica. A clindamicina está associada ao tratamento de diarreias vinculadas ao *Clostridium difficile* (veja a página 720). Sua eficiência contra anaeróbicos levou ao seu uso no tratamento da acne.

Aminoglicosídeos

Os **aminoglicosídeos** formam um grupo de antibióticos em que os aminoaçúcares se encontram ligados por ligações glicosídicas. Antibióticos aminoglicosídicos, como a *estreptomicina* e a *gentamicina*, interferem nas etapas iniciais da síntese proteica pela alteração conformacional da porção 30S do ribossomo 70S procariótico. Essa interferência leva à leitura incorreta do código genético impresso no mRNA. Eles estão entre os primeiros antibióticos a apresentar atividade significativa contra bactérias gram-negativas. Provavelmente, o aminoglicosídeo mais conhecido seja a *estreptomicina*, descoberta em 1944. A estreptomicina ainda é utilizada como droga alternativa no tratamento da tuberculose, no entanto o desenvolvimento rápido de resistência e os efeitos tóxicos sérios têm diminuído sua utilidade.

Os aminoglicosídeos podem afetar a audição ao causar danos permanentes ao nervo auditivo, e danos renais também têm sido relatados. Como resultado, seu uso tem diminuído. Outro antibiótico do grupo, a *neomicina*, está presente em muitas preparações tópicas. Já a *gentamicina* (escrita com "i" para expressar sua origem, a bactéria filamentosa *Micromonospora*) é especialmente útil no tratamento de infecções por *Pseudomonas*, as quais representam um grande problema em pacientes que sofrem de fibrose cística. O aminoglicosídeo *tobramicina* é administrado na forma de aerossol para auxiliar no controle de infecções que acometem pacientes com fibrose cística.

Tetraciclinas

As **tetraciclinas** formam um grupo de antibióticos de amplo espectro proximamente relacionados e produzidos por espécies de *Streptomyces*. Esses antibióticos interferem na ligação do tRNA, carreando aminoácidos específicos, à porção 30S do ribossomo 70S procariótico, o que previne a adição de aminoácidos às cadeias nascentes de polipeptídeos. Eles não interferem na atividade dos ribossomos de mamíferos por não entrarem de forma eficiente nas células eucarióticas intactas. Entretanto, pelo menos pequenas quantidades da droga podem entrar nas células do hospedeiro, o que justifica o fato de que patógenos intracelulares como clamídias e riquétsias são sensíveis às tetraciclinas. Nesses casos, a toxicidade seletiva da droga se deve à maior sensibilidade bacteriana no nível ribossômico. As tetraciclinas não são apenas eficazes contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, mas também são capazes de penetrar tecidos corporais com eficiência e são especialmente valiosas no tratamento de infecções por clamídias e riquétsias intracelulares. As tetraciclinas mais utilizadas são a *oxitetraciclina* (Terramicina), a *clortetraciclina* (Aureomicina) e a própria tetraciclina (**Figura 20.11**).

Algumas tetraciclinas semissintéticas, como a *doxiciclina* e a *minociclina*, estão disponíveis. Elas possuem a vantagem de apresentar maior tempo de retenção no organismo. Um derivado da minociclina, que apresenta um espectro de atividade ainda maior, constitui uma nova classe de antibióticos: a gliciclina. A primeira droga dessa classe é a *tigeciclina* (*Tigacil*), desenvolvida como uma tentativa de resposta ao MRSA.

As tetraciclinas são utilizadas no tratamento de muitas infecções urinárias, pneumonia por micoplasma e infecções por clamídias e riquétsias. Elas também são frequentemente usadas como drogas alternativas no tratamento de doenças como a gonorreia e a sífilis. Em razão de seu amplo espectro de atividade, as tetraciclinas com frequência suprimem a microbiota intestinal normal, podendo gerar desconforto gastrintestinal e superinfecções, particularmente pelo fungo *Candida albicans*. Essas drogas não são indicadas para uso em crianças, que podem apresentar manchas amarronzadas nos dentes, ou mulheres grávidas, que podem apresentar dano hepático. As tetraciclinas estão entre os antibióticos mais comumente adicionados às rações animais, e seu uso resulta em ganho de peso significativamente mais rápido, embora essa atividade possa trazer prejuízos à saúde humana (veja o quadro na página 577).

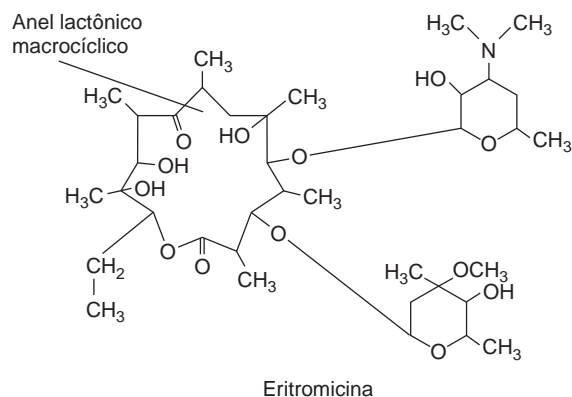
Anel lactônico macrocíclico

Eritromicina

Figura 20.12 A estrutura do antibiótico antibacteriano eritromicina, um representante dos macrolídeos. Todos os macrolídeos apresentam o anel lactônico macrocíclico mostrado aqui.

P **Como os macrolídeos afetam as bactérias?**

Macrolídeos

Os **macrolídeos** formam um grupo de antibióticos que recebe seu nome devido à presença de um anel lactônico macrocíclico. A *eritromicina* é o macrolídeo mais conhecido em uso clínico (**Figura 20.12**). Seu modo de ação consiste na inibição da síntese proteica, aparentemente pelo bloqueio do túnel apresentado na Figura 20.4a. Entretanto, a eritromicina não é capaz de penetrar a parede bacteriana da maioria dos bacilos gram-negativos. Assim, seu espectro de ação é similar àquele apresentado pela penicilina G, sendo uma droga usada como alternativa à penicilina. Por poder ser administrada oralmente, uma preparação de eritromicina com sabor de laranja é um substituto frequente da penicilina em infecções causadas por estreptococos e estafilococos em crianças. A eritromicina é a droga de escolha no tratamento de infecções por *Legionella*, pneumonias por micoplasma e diversas outras infecções.

Outros macrolídeos recentemente disponíveis incluem a *azitromicina* e a *claritromicina*. Comparadas à eritromicina, elas apresentam maior espectro antimicrobiano e são capazes de penetrar melhor os tecidos. Esse aspecto é especialmente importante no tratamento de infecções causadas por bactérias intracelulares, como as clamídias, uma causa frequente de doença sexualmente transmissível.

Uma nova geração de macrolídeos semissintéticos, os **cetolídeos**, está sendo desenvolvida para enfrentar a crescente resistência bacteriana aos outros macrolídeos. O protótipo dessa nova geração de drogas é a *telitromicina* (Ketek). Contudo, ela ainda apresenta várias restrições relativas a sua toxicidade.

Estreptograminas

Foi mencionado anteriormente que o surgimento de patógenos resistentes à vancomicina constitui um sério problema médico. Uma resposta a esse problema pode ser o desenvolvimento de um grupo único de antibióticos, as **estreptograminas**. A primeira dessas drogas a ser liberada, Sinercid, é uma combinação de dois peptídeos cíclicos, a *quinupristina* e a *dalfopristina*, que possuem uma relação distante com os macrolídeos. Elas bloqueiam a síntese proteica por sua ligação à porção 50S dos ribossomos, como fazem outros antibióticos como o cloranfenicol. O Sinercid, no entanto, age em pontos diferentes do ribossomo. A dalfopristina bloqueia um estágio inicial da síntese de proteínas, enquanto a quinupristina bloqueia uma etapa tardia do processo. A combinação das drogas gera uma ação sinérgica, que causa a liberação precoce de cadeias polipeptídicas incompletas (veja a página 578). O Sinercid é eficiente contra uma ampla gama de bactérias gram-positivas resistentes a outros antibióticos. Essas características tornam a droga especialmente valiosa, embora apresente alto custo e uma alta incidência de efeitos colaterais.

Oxazolidinonas

As oxazolidinonas formam outra classe de antibióticos desenvolvidos em resposta à resistência à vancomicina. Quando o setor de administração de drogas e alimentos dos Estados Unidos (FDA, de Food and Drug Administration) aprovou a utilização dessa classe de antibióticos, em 2001, ela foi a primeira nova classe de antibióticos a ser liberada em 25 anos. Como várias outras drogas que inibem a síntese de proteínas, as oxazolidinonas agem especificamente nos ribossomos bacterianos (veja a Figura 20.4, página 558). Entretanto, seu alvo nesse sítio é único, se ligando à porção 50S em um ponto próximo à interface com a subunidade 30S. Essas drogas são totalmente sintéticas, fato que desacelera o surgimento de resistência. Como a vancomicina, elas não têm utilidade contra bactérias gram-negativas, mas apresentam atividade contra certos enterococos que não são sensíveis ao Sinercid. Um dos membros desse grupo de antibióticos é a *linezolida* (Zyvox), usada principalmente para combater MRSA.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a eritromicina, um antibiótico macrolídeo, apresenta espectro de atividade limitado às bactérias gram-positivas apesar de seu modo de ação ser similar ao da tetraciclina, um antibiótico de amplo espectro de ação? **20-9**

Dano à membrana plasmática

A síntese da membrana plasmática bacteriana requer a produção de determinados ácidos graxos, que funcionam como blocos de montagem. O bloqueio desse processo é o alvo de vários antibióticos e drogas antimicrobianas. Exemplos incluem a droga contra a tuberculose *isoniazida* (página 563) e o antibacteriano doméstico *triclosano* (página 196). Um novo antibiótico, a *platensimicina*, também explora a biossíntese de ácidos graxos essenciais à membrana plasmática. A platensimicina é especialmente significativa por representar outro raro exemplo de uma nova classe de antibióticos químicos surgida nos últimos 40 anos (*linezolida* e *daptomicina* são outros exemplos). Essa classe de antibióticos pode representar outra arma a ser usada contra o desafio do MRSA.

A *polimixina* B é um antibiótico bactericida eficiente contra bactérias gram-negativas. Por muitos anos, ela foi uma das poucas drogas a ser utilizada em infecções contra a bactéria gram-negativa *Pseudomonas*. Entretanto, a polimixina B raramente é usada hoje, exceto no tratamento tópico de infecções superficiais.

Tanto a *bacitracina* como a *polimixina* B estão disponíveis como componentes de pomadas antissépticas, adquiridas sem a

necessidade de prescrição médica, nas quais normalmente estão combinadas à neomicina, um aminoglicosídeo de amplo espectro.

Muitos dos peptídeos antimicrobianos discutidos na página 578 têm como alvo a síntese da membrana plasmática.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Das três drogas frequentemente encontradas em cremes antissépticos populares – polimixina B, bacitracina e neomicina – qual apresenta o modo de ação mais semelhante ao da penicilina? **20-10**

Inibidores da síntese de ácidos nucleicos (DNA/RNA)

Rifamicinas

A droga mais conhecida derivada da família das **rifamicinas** é a *rifampina*. Essas drogas são estruturalmente relacionadas aos macrolídeos e inibem a síntese de mRNAs. Sem dúvida, a utilização mais importante das rifampinas é contra micobactérias, durante o tratamento de tuberculose e lepra. Uma característica valiosa dessa droga é sua capacidade de penetrar tecidos e alcançar concentrações terapêuticas no fluido cerebrospinal e em abscessos. Essa característica é um fator importante na sua atividade antituberculose, uma vez que o patógeno tuberculínico normalmente se encontra dentro de tecidos ou macrófagos. Um efeito colateral pouco comum da rifampina é a ocorrência de urina, fezes, suor e mesmo lágrimas com coloração vermelho-alaranjada.

Quinolonas e fluoroquinolonas

No início da década de 1960, a droga *ácido nalidíxico* foi desenvolvida, sendo a primeira do grupo antimicrobiano denominado **quinolonas**. Ela ficou conhecida por exercer um efeito bactericida único, pela inibição seletiva de uma enzima (DNA-girase) necessária para a replicação do DNA. Embora o ácido nalidíxico tenha sido utilizado de forma limitada (apenas para o tratamento de infecções urinárias), sua manipulação levou ao desenvolvimento, na década de 1980, de um grupo prolífico de quinolonas sintéticas denominadas **fluoroquinolonas**.

As fluoroquinolonas foram divididas em dois grupos, cada um apresentando um espectro de atividade progressivamente mais amplo. As primeiras gerações incluem as drogas *norfloxacina* e *ciprofloxacina*, ambas amplamente utilizadas. A ciprofloxacina é mais conhecida por seu nome comercial, Cipro, e recebeu grande publicidade por ser usada contra infecções por antraz. Um novo grupo de fluoroquinolonas inclui as drogas *gatifloxacina*, *gemifloxacina* e *moxifloxacina*. Esses antibióticos, excetuando-se a moxifloxacina, frequentemente são as drogas de escolha para o tratamento de infecções urinárias e também para certos tipos de pneumonia. Como grupo, as fluoroquinolonas são relativamente atóxicas. Entretanto, a resistência a elas pode se desenvolver rapidamente, mesmo durante o curso do tratamento.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Que grupo de antibióticos interfere com a enzima associada à replicação do DNA denominada DNA-girase? **20-11**

Inibidores competitivos da síntese de metabólitos essenciais

Sulfonamidas

Como mencionado anteriormente, as **sulfonamidas**, ou **drogas sulfa**, estão entre os primeiros agentes antimicrobianos sintéticos utilizados para o tratamento de doenças microbianas. O surgimento de outros antibióticos tem diminuído a importância das drogas sulfa na quimioterapia, mas elas continuam sendo usadas no tratamento de certas infecções urinárias ou em outras situações específicas. Por exemplo, elas são utilizadas em combinação com a droga *sulfadiazina de prata* para controlar infecções em pacientes queimados. As sulfonamidas são bacteriostáticas, sendo que sua ação se deve à similaridade estrutural com o ácido paraminobenzoico (PABA) (veja a discussão e as fórmulas na página 120). Micróbios sensíveis às sulfas precisam sintetizar o PABA, ao passo que seres humanos obtêm essa molécula em sua dieta.

Provavelmente, a sulfa mais utilizada hoje é a combinação de *trimetoprim* e *sulfametoxazol* (TMP-SMZ). Essa combinação é um excelente exemplo de **sinergismo** de drogas. Quando usadas em combinação, apenas 10% da concentração de cada droga são necessários, se comparado à concentração necessária quando cada droga é usada individualmente. A combinação também amplia o espectro de atividade e reduz muito o surgimento de cepas resistentes. (O sinergismo será discutido de forma mais detalhada adiante neste capítulo; veja a Figura 20.23.)

A **Figura 20.13** ilustra como duas drogas interferem em diferentes passos de uma sequência metabólica que leva à síntese de proteínas, DNA ou RNA.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Tanto bactérias como seres humanos necessitam do nutriente essencial ácido paraminobenzoico. Por que apenas as bactérias são sensíveis ao tratamento com drogas sulfa? **20-12**

Drogas antifúngicas

Eucariotos, como os fungos, utilizam os mesmos mecanismos de síntese de proteínas e ácidos nucleicos que animais superiores. Assim, é bem mais difícil encontrar pontos que garantam a toxicidade seletiva de drogas em eucariotos do que em procariotos. Além disso, as infecções fúngicas têm se tornado mais frequentes em consequência de seu papel como patógenos oportunistas em indivíduos imunocomprometidos, especialmente aqueles com Aids.

Agentes que afetam os esteróis fúngicos

Muitas drogas antifúngicas agem junto aos esteróis presentes na membrana plasmática. Nas membranas dos fungos, o principal esterol é o ergosterol; nas membranas de animais superiores, é o colesterol. Quando a síntese de ergosterol em uma membrana fúngica é bloqueada, a membrana se torna excessivamente permeável, levando à morte da célula. A inibição da síntese do ergosterol é, portanto, a base da toxicidade seletiva de muitas drogas antifúngicas, incluindo membros dos grupos polieno, azol e alilamina.

Polienos. A *anfotericina B* é o membro mais comumente utilizado da classe dos **antibióticos polienos** (**Figura 20.14**). Por muitos

Figura 20.13 Ação das drogas antibacterianas sintéticas trimetoprim e sulfametoxazol. TMP-SMZ agem inibindo diferentes passos da síntese de precursores de DNA, RNA e proteínas. Juntas, as drogas são sinergísticas.

P Defina *sinergismo*.

anos, a anfotericina B, produzida por bactérias do solo do gênero *Streptomyces*, tem sido a referência para o tratamento clínico de doenças fúngicas sistêmicas, como a histoplasmose, a paracoccidiomicose e a blastomicose. A toxicidade da droga, particularmente para os rins, é um forte fator limitante ao seu uso. A administração da droga encapsulada em lipídeos (lipossomos) parece minimizar o problema.

Azóis. Algumas das drogas antifúngicas mais amplamente usadas são os **antibióticos azóis**. Antes de seu surgimento, as únicas drogas disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas eram a anfotericina B e a flucitosina (discutidas a seguir). Os primeiros azóis foram os **imidazóis**, como o *clotrimazol* e o *miconazol* (**Figura 20.15**), vendidos atualmente sem a necessidade de prescrição médica para o tratamento tópico de micoses cutâneas, como pé-de-atleta e infecções vaginais por leveduras. Uma importante adição a esse grupo foi o *cetoconazol*, que apresenta um espectro de ação surpreendentemente amplo entre os fungos. O cetoconazol, administrado oralmente, é uma alternativa à anfotericina B para o tratamento de muitas infecções fúngicas sistêmicas. Pomadas tópicas contendo cetoconazol são usadas no tratamento de dermatomicoses da pele.

O uso do cetoconazol no tratamento de micoses sistêmicas diminuiu quando os antibióticos antifúngicos **triazóis**, menos tóxicos, foram desenvolvidos. As drogas originais desse tipo foram o *fluconazol* e o *itraconazol*. Eles são muito mais solúveis em água, o

Anfotericina B

Figura 20.14 A estrutura da droga antifúngica anfotericina B, representante dos polienos.

P Por que os polienos danificam a membrana plasmática de fungos, mas não a de bactérias?

Miconazol

Figura 20.15 **A estrutura da droga antifúngica miconazol, representante dos imidazóis.**

P **Como os azóis afetam os fungos?**

que faz com que sejam mais fáceis de usar e mais eficientes contra infecções sistêmicas. O grupo dos triazóis se expandiu recentemente com a introdução do *voriconazol*, que se tornou o novo padrão no tratamento de infecções por *Aspergillus* em pacientes imunocomprometidos. A mais nova droga triazol a ser aprovada é o *posaconazol* (*Noxafil*), que provavelmente será usada para tratar várias infecções sistêmicas por fungos.

Alilaminas. As **alilaminas** representam uma classe de agentes antifúngicos recentemente desenvolvida e que inibe a biossíntese de ergosteróis de uma maneira funcionalmente distinta. As drogas *terbinafina* e *naftifina*, exemplos desse grupo, frequentemente são usadas quando surge resistência aos antifúngicos azólicos.

Agentes que afetam as paredes celulares dos fungos

A parede celular de fungos contém compostos que são exclusivos desses organismos. Além do ergosterol, um alvo primário para a toxicidade seletiva entre esses compostos é o β-glicano. A primeira de uma nova classe de drogas antifúngicas é a **equinocandina**, que inibe a síntese de β-glicanos, resultando em síntese de parede celular incompleta e lise da célula. Um membro do grupo das equinocandinas a se tornar comercialmente disponível é a *caspofungina* (*Cancidas*), e outras drogas devem ser disponibilizadas em breve. Esses novos agentes antifúngicos deverão ser especialmente valiosos no combate às infecções sistêmicas por *Aspergillus* em pacientes que apresentam o sistema imune comprometido. Eles também são efetivos contra outras importantes infecções fúngicas, como aquelas causadas por *Candida* spp.

Agentes inibidores de ácidos nucleicos

A flucitosina, um análogo da pirimidina citosina, interfere com a síntese de RNA e, portanto, com a síntese proteica. A toxicidade seletiva é baseada no fato de que a célula fúngica converte a flucitosina em 5-fluoruracil, que é incorporado nos RNAs, o que eventualmente leva ao bloqueio da síntese proteica. As células de mamíferos não possuem a enzima que realiza a conversão da droga. A flucitosina possui um espectro de ação restrito, e sua toxicidade para os rins e a medula óssea limita ainda mais sua utilização.

Outras drogas antifúngicas

A *griseofulvina* é um antibiótico produzido por uma espécie de *Penicillium*. A droga apresenta a interessante propriedade de ser ativa contra infecções fúngicas dermatófitas superficiais de cabelo (*tinea capitis*) e unhas, embora sua via de administração seja oral. Aparentemente, a droga se liga de maneira seletiva à queratina da pele, dos folículos capilares e das unhas. Sua ação ocorre basicamente pelo bloqueio da síntese de microtúbulos, inibindo a mitose e consequentemente a reprodução do fungo.

O *tolnaftato* é uma alternativa comum ao miconazol como agente tópico para o tratamento do pé-de-atleta, porém seu modo de ação ainda não é conhecido. O *ácido undecilênico* é um ácido graxo que apresenta propriedades antifúngicas no tratamento do pé-de-atleta, embora não seja tão efetivo quanto o tolnaftato ou os imidazóis.

O *isetionato de pentamidina* é usado para o tratamento de pneumonia por *Pneumocystis*, uma infecção frequentemente associada a pacientes com Aids. O modo de ação da droga não é completamente conhecido, mas ela parece se ligar ao DNA.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que tipo de esterol, na membrana plasmática de fungos, é o alvo mais comum para a ação de agentes antifúngicos? **20-13**

Drogas antivirais

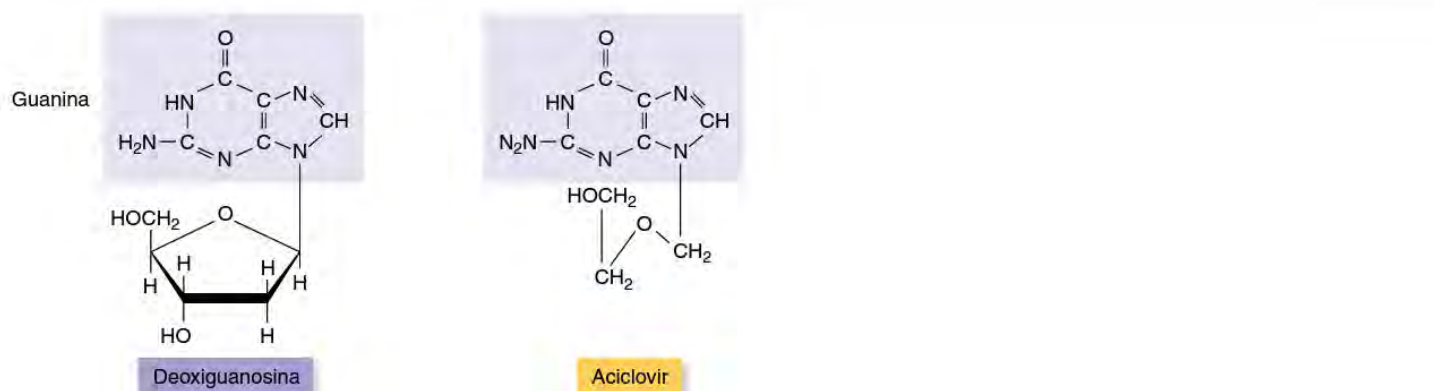
Nos países desenvolvidos, estima-se que pelo menos 60% de todas as doenças infecciosas são causados por vírus, e cerca de 15% por bactérias. Todos os anos, pelo menos 90% da população dos Estados Unidos, por exemplo, apresentam alguma doença viral. Ainda assim, relativamente poucas drogas antivirais têm sido aprovadas para uso no país e são efetivas apenas contra um número extremamente pequeno de doenças virais. Muitas das drogas antivirais recentemente desenvolvidas são direcionadas contra o HIV, o patógeno responsável pela pandemia da Aids. Dessa forma, por razões práticas, a discussão dos antivirais frequentemente é separada em agentes que são direcionados para a quimioterapia das infecções por HIV (veja a página 548) e naqueles com aplicabilidade mais genérica (não HIV) (veja a Tabela 20.4).

Devido ao fato de que os vírus se replicam dentro das células do hospedeiro, normalmente usando os mecanismos genéticos e metabólicos do próprio hospedeiro, é relativamente difícil atingi-los sem danificar a maquinaria celular. Muitos dos antivirais em uso hoje são moléculas análogas aos componentes do DNA ou do RNA viral. Entretanto, à medida que conhecemos mais sobre os mecanismos de reprodução dos vírus, mais alvos potenciais para ação antiviral são revelados.

Análogos de nucleosídeos e nucleotídeos

Diversas drogas antivirais importantes são análogas de nucleosídeos e nucleotídeos (página 47). Entre os análogos de nucleosídeos, o *aciclovir* é o mais amplamente utilizado (**Figura 20.16**). Embora conhecida por sua utilização no tratamento do herpes genital, a droga geralmente é útil contra infecções causadas por qualquer outro herpesvírus, especialmente em indivíduos imunossuprimidos. As drogas antivirais *fanciclovir*, que pode ser administrada oralmente, e *ganciclovir* são derivadas do aciclovir e apresentam modo de ação similar. A droga *ribavirina* se assemelha ao nucleosídeo guanina e acelera a taxa de mutação em vírus de RNA, que já é naturalmente alta, até que o acúmulo de erros atinja um ponto crítico, matando o vírus. O análogo de nucleosídeo *lamivudina* é usado para o tratamento da hepatite B. Mais recentemente, o análogo de nucleotídeo *adefovir dipivoxil* (*Hepsera*) foi introduzido no tratamento de pacientes com infecções resistentes ao nucleosídeo

Guanina

Deoxiguanosina

Aciclovir

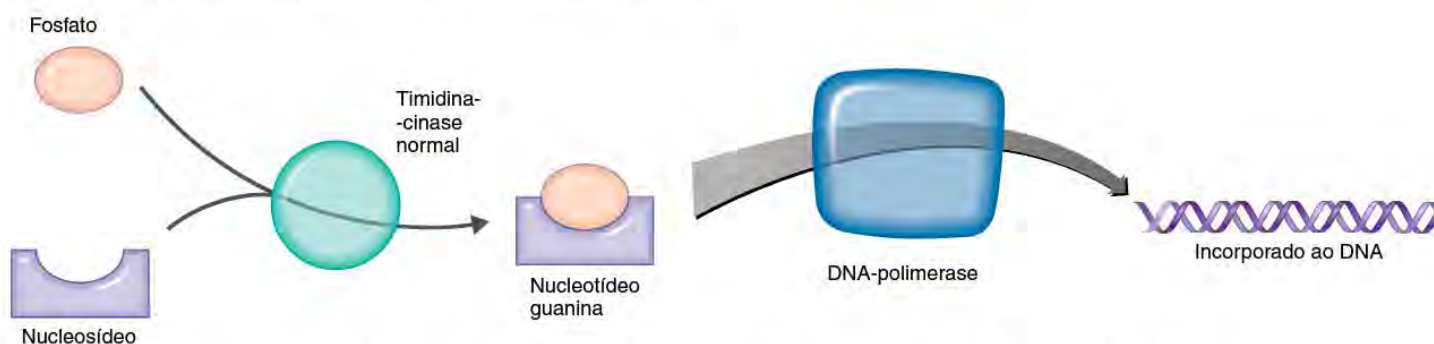
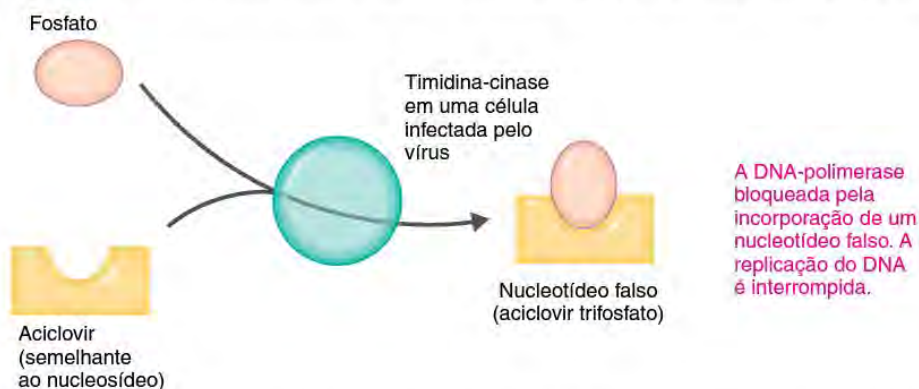
(a) O aciclovir é estruturalmente semelhante ao nucleosídeo deoxiguanosina.

(b) A enzima timidina-cinase combina fosfatos e nucleosídeos para formar nucleotídeos, que por sua vez são incorporados ao DNA.

(c) O aciclovir não apresenta efeito em uma célula não infectada por um vírus, ou seja, quando há apenas a timidina-cinase normal. Em uma célula infectada, a timidina-cinase é alterada e converte o aciclovir (que se assemelha ao nucleosídeo deoxiguanosina) em um nucleotídeo falso, que bloqueia a síntese de DNA pela DNA-polimerase.

Figura 20.16 Estrutura e função da droga antiviral aciclovir.

P Por que as infecções virais geralmente são mais difíceis de tratar com agentes quimioterápicos?

lamivudina. Outro análogo de nucleosídeo, o *cidofovir*, atualmente é usado no tratamento de infecções oculares por citomegalovírus. Entretanto, essa droga é especialmente interessante por se mostrar promissora no tratamento da varíola.

Outros inibidores de enzimas

Dois inibidores da enzima neuraminidase (página 694) foram recentemente introduzidos no tratamento da gripe, causada pelo vírus Influenza. Essas são o *zanamivir* (Relenza) e o *oseltamivir* (Tamiflu).

Interferons

Células infectadas por vírus frequentemente produzem interferon, que inibe a expansão da infecção no organismo. Interferons são classificados como citocinas, discutidas no Capítulo 17. O *interferon-α* (veja o Capítulo 16, página 468) é atualmente a droga de escolha para o tratamento de hepatites virais. A produção de interferon pode ser estimulada por um antiviral recentemente introduzido na prática clínica, o **imiquimod**. Essa droga frequentemente é prescrita para o tratamento de verrugas genitais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Um dos antivirais mais amplamente utilizados, o aciclovir, inibe a síntese de DNA. Os seres humanos também sintetizam DNA, então por que a droga é útil no tratamento de infecções virais? **20-14**

Antivirais para o tratamento do HIV/Aids

O grande interesse por tratamentos efetivos contra as infecções pandêmicas por HIV requer uma discussão sobre os muitos antivirais desenvolvidos para esse fim. O HIV é um vírus de RNA, e sua reprodução depende da enzima transcriptase reversa, que controla a síntese de DNA a partir de RNA (veja a página 387). Análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos frequentemente são a base para o bloqueio desse passo essencial da multiplicação do vírus. De fato, o termo **antirretroviral** se refere a uma droga para o tratamento da infecção por HIV (veja a discussão sobre a terapia HAART na página 548). Um exemplo bem conhecido de análogo de *nucleosídeo* é a droga *zidovudina*. Um exemplo de análogo de *nucleotídeo* é o *tenofovir*. Considerando-se o grande número de drogas necessárias para o tratamento da infecção por HIV, em especial para minimizar o surgimento de amostras virais resistentes, combinações de drogas têm sido desenvolvidas. Um exemplo dessa estratégia é a Atripla, que combina o tenofovir, a entricitabina e o efavirenz.

Nem todas as drogas que inibem a ação da transcriptase reversa são análogas de nucleosídeos ou nucleotídeos. Alguns agentes não nucleosídicos, como a *nevirapina*, por exemplo, bloqueiam a síntese de RNA por outros mecanismos.

À medida que a replicação do HIV é melhor compreendida, outras abordagens para seu controle se tornam disponíveis. Quando um novo vírus é produzido em uma célula hospedeira, o processo inicia pela quebra de grandes proteínas por enzimas proteolíticas. Como resultado, os fragmentos proteicos são utilizados para a montagem de novos vírus. Moléculas análogas às sequências de aminoácidos dessas grandes proteínas funcionam como inibidores de proteases por interferir competitivamente em sua atividade. Os **inibidores de proteases** *atazanavir*, *indinavir* e *saquinavir* têm se mostrado particularmente efetivos quando combinados com inibidores da transcriptase reversa.

A entrada do vírus HIV em uma célula por fusão pode ser bloqueada pelo uso de **inibidores de fusão**, como o *enfuvirtide*, que apresenta alto custo e precisa ser injetado duas vezes ao dia. A droga é um peptídeo sintético que bloqueia a fusão da membrana celular com o envelope viral, mimetizando uma porção da glicoproteína gp41 do envelope do HIV-1 (veja a Figura 19.13, página 540).

Drogas que afetam novos alvos na multiplicação do HIV estão sendo consideradas, e várias delas já se encontram em fase de testes clínicos. Entre elas estão os **inibidores da integrase**, que inibem uma enzima responsável pela integração do DNA viral ao DNA da célula infectada. O bloqueio da entrada do vírus na célula utilizando o correceptor CCR5 como alvo (veja a página 541) representa outra abordagem em fase de testes.

Drogas anti-helmínticas e antiprotozoóticas

Por centenas de anos, a quinina, originada da árvore peruana cinchona, foi a única droga conhecida para o tratamento efetivo de uma infecção parasítica (malária). Ela foi primeiramente introduzida na Europa no início do século XVII e ficou conhecida como "pó dos jesuítas". Atualmente existem muitas drogas anti-helmínticas e antiprotozoóticas, entretanto muitas delas ainda são consideradas experimentais. Isso não impede sua utilização, embora feita apenas por médicos qualificados. O Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) disponibiliza várias dessas drogas, quando requisitadas, caso não estejam disponíveis comercialmente.

Drogas antiprotozoóticas

A *quinina* ainda é usada para controlar a doença protozoótica malária. Entretanto, derivados sintéticos, como as *cloroquinas*, têm substituído seu uso. Para a prevenção da malária em áreas onde a doença estabeleceu resistência à cloroquina, a nova droga *mefloquina* (Lariam) é recomendada, embora efeitos colaterais psiquiátricos severos tenham sido relatados. A *quinacrina* é a droga de escolha para o tratamento da doença protozoótica giardíase. A *diiodo-hidroxiquina* (*iodoquinol*) é uma importante droga prescrita contra diversas doenças intestinais causadas por amebas, porém sua dosagem precisa ser cuidadosamente controlada para evitar dano ao nervo óptico. Seu modo de ação ainda é desconhecido.

O *metronidazol* (Flagyl) é uma das drogas antiprotozoóticas mais amplamente usadas. Ela é única no sentido de que age não apenas contra protozoários, mas também contra bactérias anaeróbicas obrigatórias. Por exemplo, como droga antiprotozoótica, é o agente de escolha contra a vaginite causada por *Trichomonas vaginalis*. Ela também é usada no tratamento de giardíase e disenteria causada por amebas. A droga age pela interferência no metabolismo anaeróbico, característica fisiológica que esses protozoários incidentalmente dividem com certas bactérias anaeróbicas obrigatórias, como *Clostridium*.

O *tinidazol*, droga semelhante ao metronidazol, foi recentemente aprovado nos Estados Unidos, embora já seja usado em outros países com o nome comercial de Fasigyn. A droga é eficiente no tratamento de giardíases, amebíases e tricomoníases. Outro novo agente antiprotozoótico é a *nitazoxanida*, a primeira droga a ser aprovada para o tratamento quimioterápico da diarreia causada por *Cryptosporidium hominis*, sendo ativa também contra giardíase e amebíase. De maneira interessante, a droga também é efetiva no tratamento de infecções helmínticas e contra algumas bactérias anaeróbicas.

Drogas anti-helmínticas

Com a crescente popularidade do sushi, uma iguaria japonesa frequentemente feita de peixe cru, o CDC começou a perceber um aumento no número de casos de infecções por platelmintos, ou vermes chatos. Para estimar a incidência desses casos, o CDC requisita a relação de prescrição da droga *niclosamida*, normalmente a primeira opção para o tratamento. A droga é efetiva por inibir a síntese de ATP em condições aeróbicas. O *praziquantel* também é eficiente para o tratamento de infecções por platelmintos. Ele elimina os vermes pela alteração da permeabilidade de suas membranas plasmáticas. O praziquantel apresenta amplo espectro de atividade, sendo recomendado para o tratamento de doenças causadas por esses vermes, especialmente a esquistossomose. A droga causa espasmos musculares nos helmintos, tornando-os suscetíveis à ação do sistema imune do hospedeiro. Aparentemente, sua ação expõe antígenos da superfície do verme, tornando-os acessíveis aos anticorpos.

O *mebendazol* e o *albendazol* são anti-hemínticos de amplo espectro que apresentam poucos efeitos colaterais, o que os torna drogas de escolha para o tratamento de muitas infecções intestinais cau-

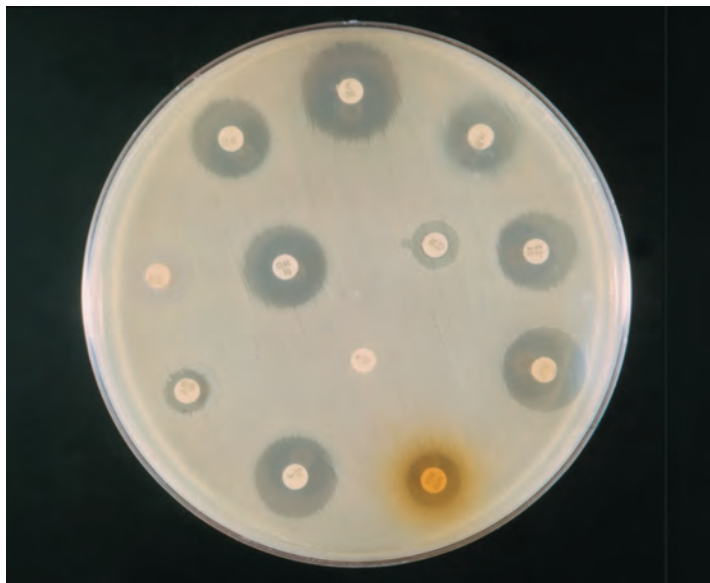



Figura 20.17 **Método de disco-difusão para determinação da atividade de antimicrobianos.** Cada disco contém um agente quimioterápico diferente que se difunde no ágar que o circunda. As zonas claras indicam inibição do crescimento do micro-organismo inoculado na superfície do ágar.

P **Qual agente é o mais eficaz contra a bactéria sendo testada?**

sadas por helmintos. O modo de ação de ambas as drogas é a inibição da formação de microtúbulos no citoplasma, o que interfere com a capacidade do parasita de absorver nutrientes. Essas drogas também são amplamente usadas pela indústria pecuária; no caso de aplicações veterinárias, elas são relativamente mais eficientes em animais ruminantes.

A *ivermectina* é uma droga que apresenta uma ampla gama de aplicações. Ela é produzida apenas por uma espécie de organismo, o *Streptomyces avermectinius*, isolado de amostras de solo próximas a um campo de golfe no Japão. A droga é efetiva contra muitos nematódeos, diversos ácaros (como a sarna), carrapatos e insetos (como o piolho) (alguns ácaros e insetos eventualmente apresentam similaridades metabólicas com os helmintos afetados pela droga). Seu uso primário tem sido na indústria pecuária, como um agente anti-helmíntico de amplo espectro. Seu modo de ação exato ainda é desconhecido, mas o resultado final é a paralisia e a morte do helminto sem que o hospedeiro mamífero seja afetado.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual foi a primeira droga disponível para ser usada contra infecções parasitárias? **20-15**

Testes para orientar a quimioterapia

OBJETIVO DO APRENDIZADO

20-16 Descrever dois testes de suscetibilidade microbiana a agentes quimioterápicos.

Diferentes espécies e cepas microbianas têm diferentes graus de suscetibilidade a diferentes agentes quimioterápicos. Além disso, a suscetibilidade de um micro-organismo pode se alterar com o tempo, mesmo durante o tratamento com uma droga específica. Assim, o médico precisa conhecer a sensibilidade do patógeno antes de iniciar um tratamento. Entretanto, os médicos frequentemente não podem esperar pelos resultados de testes de sensibilidade, iniciando o tratamento com base em sua melhor estimativa, ou palpite, de qual patógeno provavelmente esteja causando a doença.

Diversos testes podem ser utilizados para indicar qual é o melhor agente quimioterápico para combater um patógeno específico. Entretanto, se os organismos já foram identificados – por exemplo, *Pseudomonas*, estreptococos β-hemolíticos ou gonococos – determinadas drogas podem ser selecionadas sem que testes específicos de suscetibilidade sejam feitos. Os testes são necessários somente quando a suscetibilidade não pode ser prevista ou quando problemas de resistência antimicrobiana se desenvolvem.

Métodos de difusão

Os **testes de disco-difusão**, também conhecidos como *testes de Kirby-Bauer* (**Figura 20.17**) provavelmente sejam os mais utilizados, embora não necessariamente os melhores. Uma placa de Petri contendo um meio de ágar sólido tem toda sua superfície uniformemente inoculada com uma quantidade padronizada do organismo a ser testado. Em seguida, discos de filtro de papel impregnados com agentes terapêuticos em concentrações conhecidas são colocados na superfície do meio de cultura. Durante a incubação, os agentes quimioterápicos se difundem dos discos para o ágar. Quanto mais distante do disco o agente se difundir, menor será sua concentração. Se o agente quimioterápico for efetivo contra o organismo testado, uma **zona de inibição** se formará ao redor do disco após um período de incubação padronizado. O diâmetro da zona de inibição pode ser medido e, em geral, quanto maior a zona, maior a suscetibilidade do micro-organismo ao antibiótico. O diâmetro da zona de inibição é comparado aos valores em uma tabela padronizada para a droga e a concentração, e o organismo pode ser classificado como *sensível*, *intermediário* ou *resistente*. Para uma droga que apresenta baixa solubilidade, no entanto, a zona de inibição indicando que o micro-organismo é sensível será menor do que a zona gerada por uma droga que é mais solúvel e se difunde melhor no ágar. Resultados obtidos pelo método de disco-difusão frequentemente são inadequados para muitos objetivos clínicos. Entretanto, o teste é simples e barato, sendo o mais utilizado quando instalações laboratoriais sofisticadas não estão disponíveis.

Um método de difusão mais avançado, denominado **teste E**, permite ao técnico laboratorial estimar a **concentração inibitória mínima** (**CIM**), ou seja, a menor concentração do antibiótico que previne o crescimento bacteriano visível. Uma tira plástica é coberta com um gradiente de concentração do antibiótico, e a CIM pode ser avaliada por uma escala impressa na tira plástica (**Figura 20.18**).

Testes de diluição em meio líquido

Uma desvantagem dos testes de difusão é que eles não determinam se a droga é bactericida ou apenas bacteriostática. Um **método de diluição em meio líquido** frequentemente é útil para determinar a CIM e também a **concentração bactericida mínima** (**CBM**) de uma droga antimicrobiana. A CIM é determinada pela preparação de concentrações decrescentes da droga em meio líquido, seguida da inoculação com a bactéria a ser testada (**Figura 20.19**). As amostras que não

apresentam crescimento (concentrações superiores à CIM) podem ser cultivadas em outro caldo ou placas de ágar livres da droga. Se o crescimento ocorrer nesse caldo, isso significa que a droga não era bactericida, e a CBM pode então ser medida. A determinação da CIM e da CBM é importante, pois evita o uso excessivo ou incorreto de um antibiótico caro e minimiza a chance da ocorrência de efeitos tóxicos causados por doses em concentrações maiores do que as necessárias.

Testes de diluição frequentemente são automatizados. As drogas são adquiridas já diluídas em poços em uma placa plástica. Uma suspensão do micro-organismo-teste é preparada e inoculada em todos os poços, simultaneamente, pelo uso de um aparato de inoculação. Após a incubação, a turbidez do meio contido em cada poço pode ser avaliada visualmente, embora laboratórios com maiores demandas possam utilizar aparelhos que avaliam a turbidez e enviam os dados para um computador, que por sua vez fornece os dados de CIM impressos.

Outros testes também podem ser úteis para os clínicos; a determinação da capacidade de um micróbio de produzir β-lactamase é um exemplo. Um método popular e rápido usa uma cefalosporina que muda de cor quando seu anel β-lactâmico é quebrado. Além disso, a medida da *concentração sérica* de um antimicrobiano é especialmente útil quando drogas tóxicas são usadas. Esses ensaios tendem a variar com o tipo de droga testada e podem não estar disponíveis em laboratório mais simples.

Profissionais da saúde responsáveis pelo controle de infecções preparam relatórios periódicos denominados **antibiogramas**, que incluem dados sobre a suscetibilidade de organismos encontrados clinicamente. Esses relatórios são especialmente úteis para determinar o surgimento de cepas de patógenos resistentes aos antibióticos em uso nas instituições.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ No teste de disco-difusão (Kirby-Bauer), a zona de inibição ao redor do disco, indicando sensibilidade, varia de acordo com o antibiótico. Por quê? **20-16**

Figura 20.18 O teste E (epsilômetro), um método de difusão em gradiente que determina a sensibilidade e estima a concentração inibitória mínima (CIM). A tira plástica, colocada na superfície do ágar previamente inoculado com a bactéria-teste, contém um gradiente crescente de concentração do antibiótico. A CIM é claramente vista.

P Qual é a CIM no teste E central?

Resistência a drogas antimicrobianas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

20-17 Descrever os mecanismos de resistência a drogas.

Um dos avanços da medicina moderna tem sido o desenvolvimento de antibióticos e outros agentes antimicrobianos. Porém, o desenvolvimento de resistência a eles por micróbios-alvo é uma preocupação crescente. Para ilustrar esse conceito, populações humanas frequentemente apresentam relativa resistência a doenças às quais tenham sido previamente expostas por muitas gerações. Por exemplo, quando os europeus colonizaram pela primeira vez locais de clima tropical, eles se mostraram altamente suscetíveis a doenças às

Figura 20.19 Uma placa de microdiluição, ou microtítulo, usada para testar a concentração inibitória mínima (CIM) de antibióticos. Tais placas possuem até 96 poços rasos contendo concentrações conhecidas de antibióticos. Essas concentrações normalmente são adquiridas congeladas ou liofilizadas (página 170). O micróbio-teste é adicionado simultaneamente com o uso de um aparato especial. Um botão de crescimento surge se o antibiótico não tiver ação sobre o micróbio; nesse caso, ele é relatado como não sensível. Se não há crescimento em um poço, o micróbio é sensível ao antibiótico naquela concentração. Para garantir que o micróbio é capaz de crescer na ausência da droga, poços que não contêm antibióticos também são inoculados (controle positivo). Para garantir que não haja contaminação por micróbios indesejáveis, poços sem antibiótico ou inóculo também são incluídos (controle negativo)

P O que é *CIM*?

quais nunca haviam sido expostos, embora a população local fosse relativamente resistente. Os antibióticos representam, sob um determinado ponto de vista, uma doença para uma bactéria. Quando expostos a um novo antibiótico pela primeira vez, a suscetibilidade dos micróbios tende a ser elevada, assim como sua taxa de mortalidade. Nessas condições, apenas alguns poucos sobrevivem dentro de uma população de bilhões de indivíduos. Os micróbios sobreviventes normalmente apresentam alguma característica genética responsável por sua sobrevivência, de forma que sua progênie é igualmente resistente.

As diferenças genéticas se originam de mutações aleatórias. Essas mutações podem se espalhar *horizontalmente* entre as bactérias por processos como a conjugação (página 236) ou a transdução (página 237). A resistência a drogas frequentemente é carreada por plasmídeos ou por pequenos segmentos de DNA denominados transposons, os quais podem saltar de um pedaço de DNA para outro (Capítulo 8, página 240). Alguns plasmídeos, incluindo-se aqueles chamados de fatores de resistência (R), podem ser transferidos entre células bacterianas em uma população e entre populações de bactérias diferentes, porém proximamente relacionadas (veja a Figura 8.29, página 240). Fatores R com frequência apresentam genes que conferem resistência a vários antibióticos.

Uma vez adquiridas, entretanto, as mutações são transmitidas por mecanismos normais de reprodução, e a progênie passa a carregar a característica genética dos micróbios parentais. Devido à alta taxa de reprodução das bactérias, apenas um curto período é necessário para que quase toda a população passe a ser resistente ao novo antibiótico.

Mecanismo de resistência

Existem apenas alguns mecanismos pelos quais as bactérias se tornam resistentes a um agente quimioterápico. Veja a **Figura 20.20.**

Destruição ou inativação enzimática da droga

A destruição ou inativação enzimática afeta principalmente antibióticos que são produtos naturais, como as penicilinas e as cefalosporinas. Grupos de antibióticos totalmente sintéticos, como as fluoroquinolonas, apresentam menor probabilidade de serem afetados dessa maneira, embora possam ser neutralizados de outras formas. Isso pode refletir simplesmente o fato de que os micróbios tiveram pouco tempo para se adaptar a essas estruturas químicas menos familiares. Os antibióticos do tipo penicilina/cefalosporina e também os carbapenemos compartilham uma estrutura, o anel β-lactâmico, que é alvo de enzimas β-lactamases que hidrolisam seletivamente essa estrutura. Cerca de 200 variações dessa enzima são conhecidas atualmente, sendo que cada uma é eficiente contra pequenas variantes estruturais do anel β-lactâmico. Quando esse problema surgiu pela primeira vez, a molécula básica de penicilina foi modificada. A primeira das drogas resistentes a penicilinases foi a meticilina (veja as páginas 560 e 561). Entretanto, a resistência à meticilina surgiu rapidamente. O exemplo mais conhecido desse tipo de bactéria resistente é o patógeno MRSA (página 560), resistente a praticamente todos os antibióticos, não só à meticilina. Entretanto, o *S. aureus* não é a única bactéria a gerar preocupação. Outros importantes patógenos, como o *Streptococcus pneumoniae,* também desenvolveram resistência aos antibióticos β-lactâmicos. Além disso, o MRSA continua a desenvolver resistência contra uma sucessão de novas drogas como a vancomicina, embora esse antibiótico apresente um modo de ação sobre a parede celular bacteriana que é totalmente diferente daquele apresentado pelas penicilinas. Felizmente, cepas resistentes à vancomicina ainda não se espalharam. Essas bactérias altamente adaptáveis chegaram a desenvolver resistência contra combinações de antibióticos que incluem o ácido clavulânico, desenvolvido especificamente como um inibidor de β-lactamases (veja a página 561). A princípio, o MRSA era um problema exclusivamente hospitalar ou de ambientes relacionados, sendo responsável por quase 20% de todas as infecções parenterais. No entanto, essas bactérias agora causam surtos frequentes nas comunidades em geral, afetando indivíduos previamente sadios e causando mortalidade significativa. O MRSA se tornou a causa mais frequente de infecções de pele e tecidos moles tratadas em unidades de emergência nos Estados Unidos. Como consequência, a terminologia descritiva agora se refere à *MRSA associada à comunidade*. Além das β-lactamases, o mecanismo de resistência nessas bactérias inclui enzimas não relacionadas que modificam e inativam grupos de antibióticos formados por cloranfenicol ou aminoglicosídeos.

Prevenção da entrada no sítio-alvo dentro do micróbio

Bactérias gram-negativas são relativamente mais resistentes a antibióticos devido à natureza de suas paredes celulares, que restringem a absorção de moléculas e seu movimento por aberturas denominadas porinas (veja a página 87). Alguns mutantes bacterianos modificaram a abertura das porinas de forma que os antibióticos são incapazes de entrar no espaço periplasmático. Talvez ainda mais importante seja o fato de que as β-lactamases podem estar presentes no espaço periplasmático, mantendo o antibiótico fora da célula. Nesses casos, a enzima é muito grande para penetrar até mesmo uma porina normal, se mantendo nesse sítio, onde alcança e inativa o antibiótico.

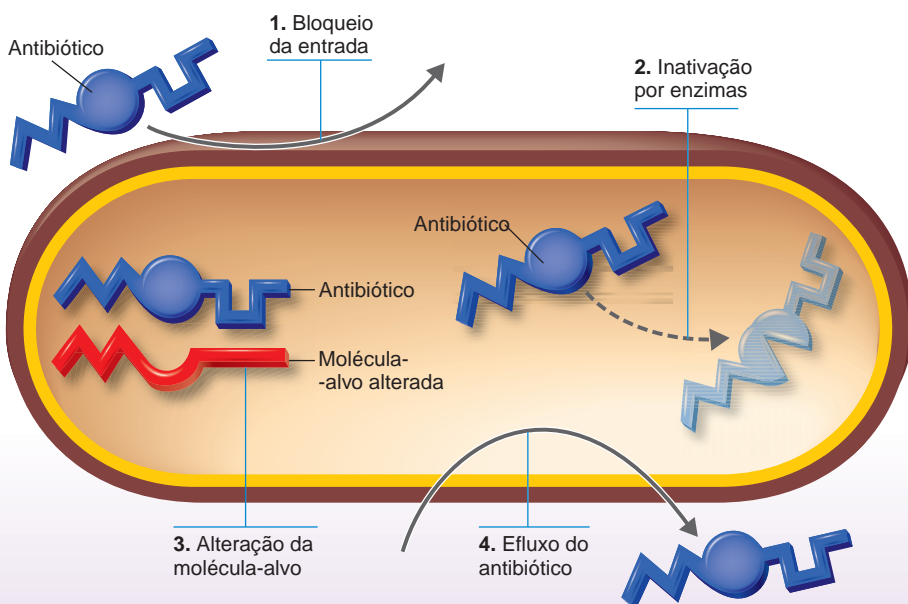
Alterações no sítio-alvo da droga

A síntese de proteínas envolve o movimento de um ribossomo ao longo de uma fita de mRNA, como mostrado na Figura 20.4. Vários antibióticos, especialmente aqueles pertencentes aos grupos de aminoglicosídeos, tetraciclinas e macrolídeos, possuem um modo de ação que inibe a síntese proteica nesse sítio. Pequenas modificações no sítio podem neutralizar os efeitos dos antibióticos sem que ocorram alterações significativas nas funções celulares.

De modo interessante, o principal mecanismo pelo qual o MRSA ganhou ascendência sobre a meticilina não foi uma nova enzima inativadora, mas sim a modificação da proteína de ligação à penicilina (PBP, *de penicillin-binding protein*), presente na membrana plasmática bacteriana. Antibióticos β-lactâmicos agem pela ligação à PBP, a qual é necessária para o início da ligação cruzada entre peptideoglicanos e a formação da parede celular. Cepas de MRSA se tornaram resistentes porque desenvolveram uma PBP adicional, modificada. Os antibióticos continuam a inibir a ação da PBP normal. Contudo, a PBP adicional presente nas células mutantes, embora se ligue fracamente ao antibiótico, permite a síntese de uma parede celular adequada à sobrevivência do MRSA.

Figura 20.20

FIGURA FUNDAMENTAL Resistência a antibióticos

Assim como o número de alvos para a ação dos antibióticos é limitado, como mostrado na Figura 20.2, o número de mecanismos pelos quais as bactérias se tornam resistentes aos antibióticos também é limitado. Esta figura ilustra os quatro principais mecanismos de resistência a antibióticos discutidos em detalhe neste capítulo. O conhecimento de como estes mecanismos funcionam é a base para se compreender por que é importante prescrever o antimicrobiano apropriado para combater uma doença específica (como aquelas apresentadas nos próximos seis capítulos).

Conceito-chave

Os quatro principais mecanismos de resistência microbiana a agentes antimicrobianos são o bloqueio da entrada da droga na célula, a inativação da droga por enzimas, a ocorrência de alteração nos sítios-alvo da droga e o efluxo celular da droga.

Efluxo rápido (ejeção) do antibiótico

Certas proteínas na membrana plasmática de bactérias gram-negativas agem como bombas que expelem os antibióticos, impedindo que alcancem uma concentração efetiva. Este mecanismo foi originalmente observado em antibióticos do tipo tetraciclina, mas também é responsável pela resistência a praticamente todas as principais classes de antibióticos. As bactérias normalmente apresentam muitas dessas bombas de efluxo para eliminar substâncias tóxicas.

Variações nos mecanismos também ocorrem. Como exemplo, um micróbio pode se tornar resistente ao trimetoprim pela síntese de grandes quantidades da enzima contra a qual o antibiótico age. Por outro lado, antibióticos polienos podem se tornar menos eficazes quando organismos resistentes passam a produzir quantidades menores dos esteróis contra os quais a droga é eficiente. Particularmente preocupante é a possibilidade de que estes *mutantes resistentes* possam substituir de modo gradativo as populações normais suscetíveis. A **Figura 20.21** demonstra a velocidade de crescimento de populações bacterianas quando a resistência se desenvolve.

Uso inadequado de antibióticos

Em nenhuma outra parte do mundo os antibióticos têm sido usados de modo tão inadequado quanto nas regiões menos desenvolvidas. Existem poucos funcionários bem treinados, especialmente nas áreas rurais, o que pode explicar por que os antibióticos podem ser comprados, de forma quase universal, sem prescrição médica nestes países. Um estudo conduzido nas zonas rurais de Bangladesh, por exemplo, mostrou que apenas 8% dos antibióticos em uso haviam sido prescritos por um médico. Em muitas outras partes do mundo, os antibióticos são vendidos para o tratamento de dores de cabeça ou para outros usos inapropriados (**Figura 20.22**). Mesmo quando o uso de antibióticos é apropriado, os regimes de doses em geral são mais curtos do que o necessário para erradicar a infecção, o que estimula a sobrevivência de cepas resistentes de bactérias. Medicamentos vencidos, adulterados (impuros) ou até mesmo falsificados são comuns.

Não obstante, o mundo desenvolvido também tem contribuído para o surgimento da resistência aos antibióticos. O Centro de Controle de Doenças (CDC) estima que, nos Estados Unidos, 30% das prescrições de antibióticos para o tratamento de infecções do aparelho auditivo, 100% das prescrições para o resfriado comum e 50% das prescrições para dores de garganta tenham sido desnecessárias ou inapropriadas para tratar os patógenos em questão. Pelo menos metade das 100 mil toneladas de antibióticos produzidas nos Estados Unidos a cada ano não é usada para o tratamento de doenças, mas sim em rações animais para promover ganho de peso – uma prática que muitas pessoas acreditam que deveria se controlada (veja o quadro na página 577).

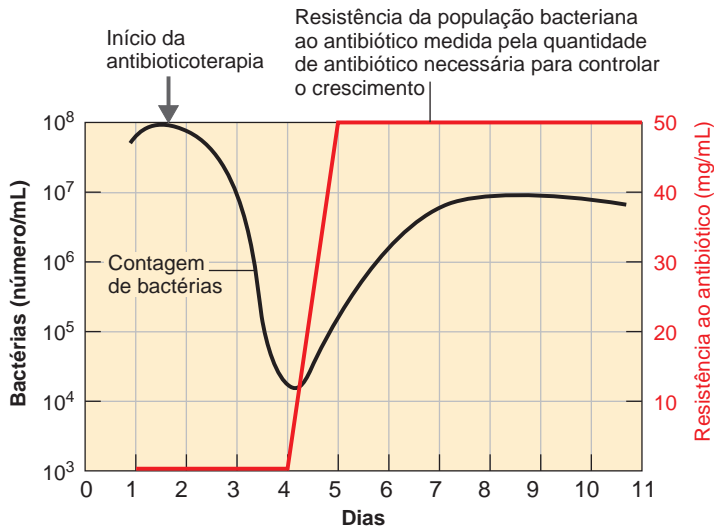



Figura 20.21 Desenvolvimento de um mutante resistente a um antibiótico durante a antibioticoterapia. Um paciente, que sofre de infecção renal crônica causada por uma bactéria gram-negativa, foi tratado com estreptomicina. A linha vermelha indica a resistência da população bacteriana ao antibiótico. Até o quarto dia, quase toda a população bacteriana é sensível ao antibiótico. Nesse momento, mutantes que requerem 50.000 µg/mL de antibiótico (uma dose muito alta) para serem controlados surgem, e seu número aumenta rapidamente. A linha preta representa a população bacteriana no paciente. Após o início da antibioticoterapia, a população diminui até o quarto dia. Neste ponto, surgem mutantes resistentes à estreptomicina. A população bacteriana no paciente aumenta à medida que os mutantes substituem a população sensível.

P Este teste utilizou estreptomicina e uma bactéria gram-negativa. Como as linhas representadas ficariam caso a penicilina G tivesse sido o antibiótico escolhido?

Figura 20.22 Antibióticos têm sido vendidos sem prescrição médica por muitas décadas em grande parte do mundo.

P Como esta prática pode levar ao desenvolvimento de cepas de patógenos resistentes?

Custo e prevenção da resistência

A resistência aos antibióticos representa um alto custo em vários aspectos, além daqueles aparentes nos casos de altas taxas de doença e mortalidade. O desenvolvimento de novas drogas para substituir aquelas que perderam a eficácia é extremamente caro. Quase todas as drogas novas serão mais caras que suas antecessoras, muitas vezes em níveis que tornam seu uso difícil mesmo em países altamente desenvolvidos. Em países menos desenvolvidos, então, os custos podem ser simplesmente impraticáveis.

Existem muitas estratégias que pacientes e profissionais da saúde podem adotar para prevenir o desenvolvimento da resistência antimicrobiana. Mesmo quando o paciente sente que se recuperou de uma doença, ele deve sempre completar o tratamento prescrito, o que desestimula a sobrevivência e a proliferação de micróbios resistentes ao antibiótico. Os pacientes não devem nunca utilizar sobras de antibióticos para tratar uma nova doença, nem usar um antibiótico que tenha sido prescrito para outra pessoa. Profissionais da saúde devem evitar prescrições desnecessárias e garantir que a escolha e a dosagem dos antimicrobianos sejam apropriadas à situação. Eles devem optar por prescrever o antibiótico mais adequado, em vez de antimicrobianos de amplo espectro de ação, o que ajuda a diminuir as chances de que um antibiótico gere inadvertidamente resistência dentro da flora normal do paciente.

Cepas bacterianas resistentes são particularmente comuns entre profissionais da equipe hospitalar, uma vez que o uso de antibióticos é constante em seu ambiente de trabalho. No caso de antibióticos que precisam ser injetados, a seringa precisa primeiramente ser posicionada na vertical para eliminar bolhas, uma prática que acaba por gerar a formação de aerossóis de solução antibiótica. Quando o médico ou enfermeiro inalam esses aerossóis, os micro-organismos que habitam as narinas, por exemplo, são expostos a estas drogas. Muitos hospitais têm comitês que revisam o uso dos antibióticos em relação à sua efetividade e custo.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Qual o mecanismo mais comumente usado por uma bactéria para resistir aos efeitos da penicilina? **20-17**

Uso seguro dos antibióticos

Em nossa discussão sobre antibióticos, algumas vezes mencionamos os efeitos colaterais. Muitos são potencialmente graves como dano hepático e renal ou desenvolvimento de surdez. A administração de qualquer droga envolve o julgamento dos riscos e benefícios; isso é denominado *índice terapêutico*. Eventualmente, o uso de outra droga pode causar efeitos tóxicos que não ocorrem quando a droga é administrada sozinha. Uma droga também pode neutralizar os efeitos esperados de outra. Por exemplo, alguns antibióticos apresentam potencial para neutralizar o efeito de pílulas contraceptivas. Além disso, alguns indivíduos podem apresentar reações de hipersensibilidade, por exemplo, às penicilinas (veja o quadro na página 531).

FOCO CLÍNICO

Antibióticos na ração animal estão ligados a doenças em seres humanos

Ao ler o texto deste quadro, você encontrará uma série de questões que os microbiologistas levantam ao combater a resistência microbiana aos antibióticos. Tente responder cada questão antes de passar para a próxima.

1. Criadores usam antibióticos nas rações de animais alojados em grupo, pois as drogas reduzem o número de infecções bacterianas e promovem a aceleração do crescimento. Hoje, mais da metade dos antibióticos utilizados em todo o mundo é destinada a animais de fazenda.

   A carne e o leite que chegam à mesa dos consumidores não são super carregados com antibióticos. Assim, qual o risco de usar antibióticos nas rações animais?

2. A presença constante de antibióticos nesses animais é um exemplo da "sobrevivência do mais forte". Os antibióticos matam algumas bactérias, mas outras possuem propriedades que permitem que sobrevivam.

   Como as bactérias adquirem genes relacionados à resistência?

3. A resistência bacteriana às drogas antimicrobianas é o resultado de mutações. Essas mutações podem ser transmitidas para outras bactérias pela transferência horizontal de genes (Figura A).

   Que evidência demonstraria que o uso veterinário de antibióticos favorece a resistência?

4. *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VREs) foram isolados pela primeira vez na França em 1986 e posteriormente encontrados nos Estados Unidos em 1989. A vancomicina e um outro glicopeptídeo, a avoparcina, foram amplamente usados em rações animais na Europa. Em 1996, o uso veterinário da avoparcina foi banido na Alemanha. Depois disso, amostras VRE-positivas diminuíram de 100% para 25%, e o percentual de infecções humanas por essas bactérias diminuiu de 12% para 3%.

   ***Campylobacter jejuni* é uma bactéria comensal do intestino de aves. Que doença o *C. jejuni* causa em seres humanos?**

5. Anualmente, nos Estados Unidos, o *Campylobacter* causa cerca de 2 milhões de infecções alimentares. Cepas de *C. jejuni* resistentes a fluoroquinolonas (FQs) surgiram na década de 1990 (Figura B).

   Quais são as FQs usadas no tratamento de infecções humanas? (*Dica:* veja a Tabela 20.3.)

6. O surgimento corresponde à presença de *C. jejuni* resistentes a FQs em carnes de frango compradas em mercados. *C. jejuni* FQ-resistentes poderiam ter sido selecionados em pacientes que tivessem feito uso de FQs. No entanto, um estudo de amostras de *Campylobacter* isoladas de pacientes entre 1997 e 2001 demonstrou que pessoas infectadas com *C. jejuni* FQ-resistentes não haviam tomado a droga antes da doença e não haviam viajado para fora dos Estados Unidos.

   Sugira uma medida para diminuir o surgimento de resistência à FQ.

7. O uso de FQ em rações de aves foi banido em 1995, na esperança de reduzir a resistência à droga. Uma variedade de abordagens pode ser necessária para reduzir a possibilidade de ocorrência de doenças: (1) prevenir a colonização dos animais nos criadouros, (2) reduzir a contaminação fecal da carne durante o processamento nos abatedouros, e (3) usar métodos de estocagem e cozimento adequados.

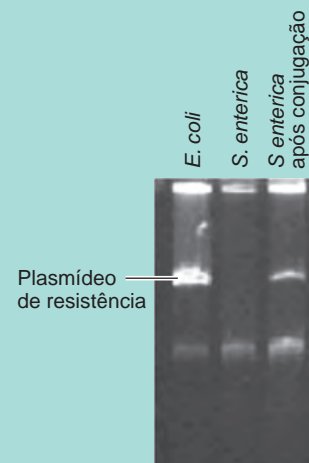



Figura A Resistência à cefalosporina em *E. coli* transferida por conjugação para *Salmonella enterica* no trato gastrintestinal de perus.

Fonte: Centro de Controle de Doenças (CDC) e Sistema Nacional de Monitoramento de Resistência Antimicrobiana dos Estados Unidos.

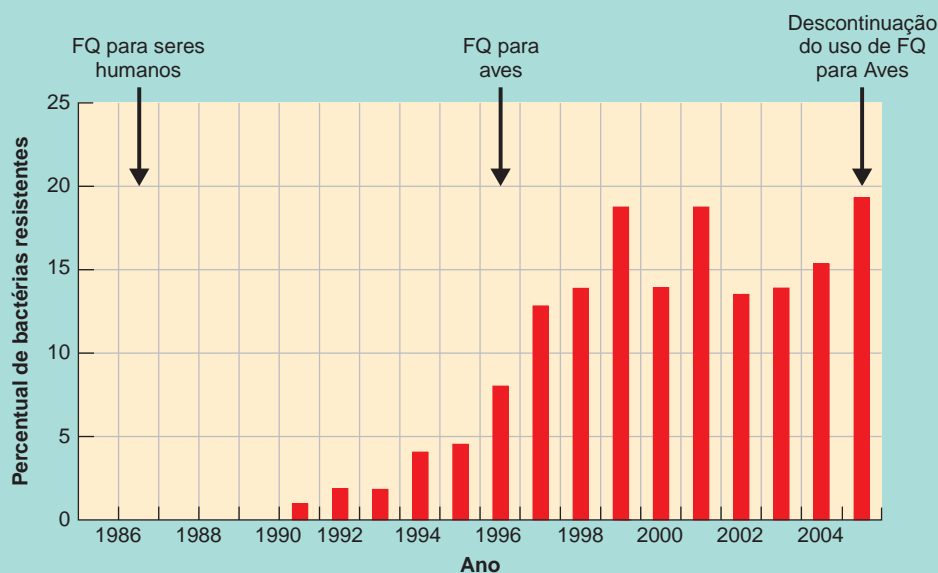



Figura B *Campylobacter jejuni* resistente à fluoroquinolona nos Estados Unidos, de 1982 a 2005.

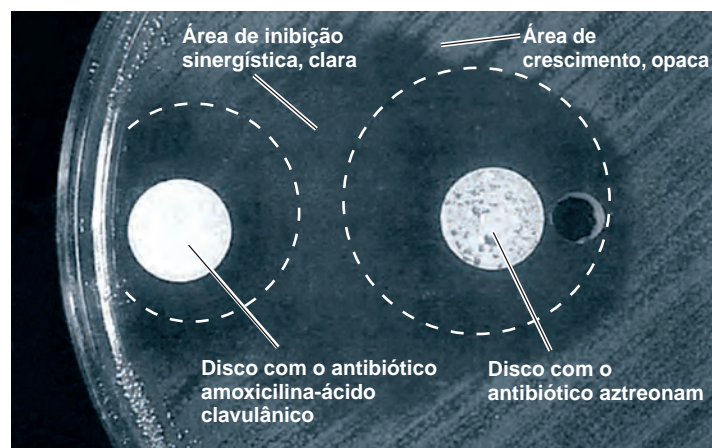



Figura 20.23 **Exemplo de sinergismo entre dois antibióticos diferentes.** A fotografia mostra a superfície de uma placa de Petri semeada com bactérias. O disco de papel à esquerda contém o antibiótico amoxicilina mais o ácido clavulânico. O disco à direita contém o antibiótico aztreonam. Os círculos tracejados sobre a foto mostram as áreas claras circundando cada disco onde o crescimento bacteriano teria sido inibido caso não houvesse sinergismo. As áreas claras adicionais, visualizadas fora dos círculos desenhados, ilustram a inibição do crescimento bacteriano por ação do sinergismo.

P **Como a placa ficaria caso os dois antibióticos fossem antagonistas?**

Nos Estados Unidos, mulheres grávidas podem tomar somente aqueles antibióticos que são classificados pela Food and Drug Administration como sendo inofensivos ao feto.

Efeitos da combinação de drogas

OBJETIVO DO APRENDIZADO

20-18 Comparar e contrastar sinergismo e antagonismo.

O efeito quimioterápico de duas drogas administradas simultaneamente algumas vezes é mais intenso que o efeito da administração isolada de cada uma delas (**Figura 20.23**). Esse fenômeno, chamado de **sinergismo**, foi apresentado anteriormente. Por exemplo, para o tratamento da endocardite bacteriana, a penicilina e a estreptomicina são muito mais eficientes quando tomadas juntas do que quando cada droga é administrada separadamente. O dano à parede celular bacteriana causado pela penicilina faz com que seja mais fácil a penetração intracelular da estreptomicina.

Outras combinações de drogas podem gerar **antagonismo**. Por exemplo, o uso simultâneo de penicilina e tetraciclina muitas vezes é menos eficiente que o uso isolado de cada uma das drogas. Ao parar o crescimento bacteriano, a tetraciclina, uma droga bacteriostática, interfere na ação da penicilina, que requer crescimento bacteriano para que sua ação ocorra.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ A tetraciclina pode, eventualmente, interferir na atividade da penicilina. Como? **20-18**

O futuro dos agentes quimioterápicos

OBJETIVO DO APRENDIZADO

20-19 Identificar três áreas de pesquisa em novos agentes quimioterápicos.

Como a resistência aos antibióticos existentes, cuja ação é focada em uma amplitude limitada de alvos, continua a se desenvolver, as pesquisas têm buscado investigar novos alvos para agentes antimicrobianos, além daqueles resumidos na Figura 20.2. A maioria dos antibióticos atuais é produzida por algum micro-organismo. O interesse agora está focado em antibióticos produzidos por plantas e animais.

Peptídeos antimicrobianos

Organismos superiores, mesmo aqueles que não apresentam um sistema imune adaptativo, frequentemente exibem extraordinária resistência a infecções microbianas. Esse fato atraiu a atenção de pesquisadores à procura de substitutos para os antibióticos que perderam sua efetividade.

Os micro-organismos não são os únicos organismos que produzem substâncias antimicrobianas. Os **peptídeos antimicrobianos** são componentes essenciais do sistema imune inato de muitos pássaros, anfíbios, plantas e mamíferos. De fato, eles são parte dos sistemas de defesa de muitas formas de vida. Centenas de peptídeos desse tipo foram identificadas, literalmente. Eles tendem a ter 100 aminoácidos, ou menos, e carregam uma carga elétrica positiva, razão pela qual eventualmente são denominados *peptídeos catiônicos*. Esse é um fator essencial de sua atividade, pois permite que os peptídeos danifiquem as membranas microbianas que são ricas em fosfolipídeos de carga negativa, ou aniônica. Vírus envelopados também são afetados por interações similares. No caso de vírus não envelopados, os peptídeos antimicrobianos podem interagir com receptores para o vírus nas células hospedeiras, bloqueando a adsorção viral a elas. As bactérias também são afetadas pela ação dos peptídeos contra outros alvos intracelulares, incluindo ácidos nucleicos, síntese proteica e até mesmo formação da parede celular. Embora muitos desses peptídeos sejam capazes de danificar diretamente bactérias, fungos ou vírus, principalmente por sua ação sobre as membranas, eles provavelmente são mais importantes estimulando a ação do sistema imune inato do hospedeiro e gerando uma resposta inflamatória.

As glândulas da pele de anfíbios são uma rica fonte de peptídeos antimicrobianos. Os mais conhecidos desses peptídeos são as *magaininas* (da palavra hebraica para "escudo"), que apresentam um espectro de atividade particularmente amplo. A *nisina*, mencionada anteriormente por seu uso como conservante alimentício, é um antimicrobiano semelhante às bacteriocinas (veja as páginas 200, 309 e 401) e que lembra a magainina em seu modo de ação sobre as membranas. É especialmente interessante o fato de que esse agente antimicrobiano tenha sido usado por décadas sem o surgimento significativo de resistência.

Invertebrados como os insetos não possuem um sistema imune adaptativo, uma vez que só se desenvolveu em espécies de vertebrados. Assim, eles precisam confiar em seu sistema imune inato para

combater a ação de patógenos. Entretanto, evidências indicam que essa resposta é muito eficiente. Ainda mais importante é o fato de que esses peptídeos existem a milhões de anos sem que a resistência microbiana a eles tenha se desenvolvido. A mariposa-da-seda gigante é protegida por um peptídeo, a *cecropina*, e o veneno da abelha contém outro peptídeo antimicrobiano, a *melitina*. Ambos estão sendo testados.

Um inesperado fruto da investigação das estratégias imunológicas de invertebrados foi a descoberta dos padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs; veja a página 450), como os receptores do tipo Toll (TLRs).* Estas descobertas representaram um importante desenvolvimento no campo da imunologia ao mostrar que os PAMPs são componentes fundamentais de bactérias patogênicas e sua detecção funciona como um aviso da presença desses patógenos.

Os peptídeos antimicrobianos mais abundantes são *as defensinas*, encontradas em insetos, plantas e outros invertebrados – e também em pássaros e mamíferos. Essas moléculas são mais ativas contra bactérias e fungos. Micróbios fagocitados são expostos às defensinas em neutrófilos, e elas são liberadas por células de Paneth (células secretoras especializadas) no trato gastrintestinal. Elas também são encontradas na pele e nas membranas mucosas de seres humanos.

Agentes antissenso

Outra abordagem promissora é o uso de pequenas fitas sintéticas de DNA chamadas de **agentes antissenso**. (Devido ao fato de que agentes antissenso envolvem o uso de ácidos nucleicos, as pessoas que os estudam passaram a chamá-los de "nubióticos".) O princípio da estratégia se baseia na identificação de sítios de DNA ou RNA do patógeno responsáveis por efeitos patogênicos. Segmentos de DNA são então sintetizados, selecionando e se ligando especificamente aos sítios-alvo. Esse processo bloqueia a síntese da proteína codificada pelo ácido nucleico alvo. Além disso, essa abordagem apresenta uma grande vantagem: ela impede a síntese da proteína patogênica, em vez de tentar neutralizá-la seletivamente depois de ter sido produzida. Um antiviral baseado no princípio antissenso, o *fomivirsen*, foi aprovado para o tratamento de uma doença ocular, a retinite, causada por citomegalovírus.

As células de mamíferos possuem um mecanismo que ocasionalmente previne a produção de proteínas a partir de seu RNA mensageiro (mRNA). Essa propriedade é útil, por exemplo, quando um vírus infectante tenta se apoderar do metabolismo celular para produzir suas próprias proteínas. Esse mecanismo, denominado **interferência de RNA** (**RNAi**), é proposto como a base de drogas denominadas **pequenos RNAs interferentes** (**siRNA**, de *small interfering RNA*), os quais poderiam bloquear seletivamente a síntese de proteínas por patógenos (veja a página 259). Essa estratégia é similar, a princípio, aos agentes antissenso, porém é muito mais eficiente (pelo menos em teoria). Não existem mecanismos de resistência a esta atividade em bactérias. Em vez de bloquear um único mRNA, os siRNAs funcionam como catalistas que repetem sua atividade indefinidamente. Entretanto, existem muitas dificuldades que deverão ser solucionadas antes que drogas comercialmente práticas possam surgir.

Outras abordagens ainda mais exóticas para tentar resolver o problema da resistência microbiana estão sendo consideradas. Antes mesmo da era dos antibióticos, o uso de bacteriófagos foi considerado como uma possibilidade para a terapia de doenças. Esses vírus são altamente seletivos em sua atividade de infecção, porém experimentos geraram resultados não muito promissores. Cientistas russos, em particular, continuam a estudar a chamada **fagoterapia**. Atualmente, em vez de utilizar fagos intactos, contra os quais as bactérias desenvolvem rapidamente a resistência, os cientistas consideram possível a utilização, como antimicrobianos, de proteínas produzidas pelos fagos e que causam a lise bacteriana.

Estudos de outros vertebrados também se mostraram produtivos. Comparados aos mamíferos, os tubarões possuem um sistema imune rudimentar. A observação de que tubarões são resistentes a infecções até mesmo em águas altamente contaminadas levou à descoberta de um esteroide interessante, a *esqualamina*, que se apresenta tão poderosa como a ampicilina contra muitos patógenos – pelo menos em condições laboratoriais.

Uma abordagem realmente nova no controle de patógenos foi descoberta em experimentos laboratoriais. Os antibióticos atualmente em uso controlam os patógenos atacando fatores envolvidos na reprodução e no crescimento. Novos experimentos ilustram uma abordagem alternativa: o bloqueio da produção de fatores que tornam o patógeno virulento. Uma seleção de pequenas moléculas revelou um composto experimental, a *virstatina*, que inibe a produção da toxina e de um pilo de ligação necessário à patogenicidade do bacilo colérico. A virstatina desliga a síntese de toxinas e também diminui o número de bactérias retidas no trato gastrintestinal – sem influenciar o crescimento bacteriano. O crescimento sustentado da bactéria permite, então, o desenvolvimento de uma resposta imune normal, o que é desejável para se evitar futuras infecções. Esse não é o único antimicrobiano novo em estudo; alguns outros, por exemplo, são capazes de sequestrar o ferro necessário para o crescimento microbiano e bloquear a formação de fímbrias de ligação. A maioria dessas novas abordagens ainda se encontra em estágio investigativo. Existe um interesse especial em drogas antivirais, assim como em drogas antifúngicas e antiparasitárias, devido ao fato de que o nosso arsenal nessas categorias é bastante limitado.

Um problema para o desenvolvimento de agentes antimicrobianos é que eles não são particularmente rentáveis. Assim como as vacinas, eles são utilizados somente em raras ocasiões. Companhias farmacêuticas estão mais interessadas no desenvolvimento de drogas que tratam condições crônicas, como pressão alta e diabetes, para as quais o paciente deve fazer uso regular do medicamento por anos.

* As moscas-das-frutas se defendem de infecções fúngicas pela ação de uma proteína denominada *Toll* – palavra em alemão que significa "estranho". O termo é derivado do fato de que a proteína *Toll* (veja os receptores do tipo *Toll*, página 450) também está envolvida no desenvolvimento embrionário, e moscas que não possuem essa proteína íntegra apresentam aparência estranha.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Por que a carga elétrica positiva dos peptídeos antimicrobianos é um fator relacionado ao modo de ação dessas drogas? **20-19**

* * *

Os últimos capítulos mostraram o quanto a ciência tem mudado os impactos das doenças infecciosas na mortalidade e na expectativa de vida dos seres humanos. Na virada do século XX, as causas de morte mais comuns eram as doenças infecciosas, que incluíam tuberculose, febre tifoide e difteria, causadas por bactérias. No início do século XXI, doenças virais como influenza, pneumonia viral e Aids são as únicas doenças infecciosas entre as 10 maiores causas de morte nos Estados Unidos. Esses fatos evidenciam a efetividade das ações sanitárias, do uso de vacinas e (como discutido neste capítulo) da descoberta e do uso dos antibióticos. Nos Capítulos 21 a 26, veremos que o esforço no combate às doenças infecciosas continua.

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 553)

1. Uma droga antimicrobiana é uma substância química que destrói micro-organismos patogênicos com dano mínimo ao hospedeiro.
2. Os agentes quimioterápicos incluem substâncias químicas que combatem doenças no organismo.

A história da quimioterapia (p. 554, 555)

1. Paul Ehrlich desenvolveu o conceito de quimioterapia para tratar doenças microbianas; ele antecipou o desenvolvimento de agentes quimioterápicos; os quais seriam capazes de matar patógenos sem prejudicar o hospedeiro.
2. As drogas sulfa surgiram no final da década de 1930.
3. Alexander Fleming descobriu o primeiro antibiótico, a penicilina, em 1929; os primeiros testes clínicos com a droga aconteceram em 1940.

O espectro de atividade antimicrobiana (p. 555)

1. As drogas antibacterianas afetam muitos alvos diferentes dentro de uma célula procariótica.
2. As infecções fúngicas, helmínticas e protozoóticas são mais difíceis de tratar porque esses organismos possuem células eucarióticas.
3. As drogas de espectro restrito afetam apenas alguns grupos seletos de micro-organismos – células gram-positivas, por exemplo; drogas de espectro amplo afetam um grande número de micróbios.
4. Drogas constituídas por moléculas pequenas e hidrofílicas afetam células gram-negativas.
5. Os agentes antimicrobianos não podem causar dano excessivo à microbiota normal.
6. As superinfecções acontecem quando um patógeno desenvolve resistência à droga sendo usada ou quando a microbiota, normalmente resistente, se multiplica em excesso.

Ação das drogas antimicrobianas (p. 555-559)

1. A ação, em geral, ocorre pela morte direta do micro-organismo (droga bactericida) ou pela inibição do seu crescimento (droga bacteriostática).
2. Algumas drogas, como a penicilina, inibem a síntese da parede celular nas bactérias.
3. Outros agentes, como o cloranfenicol, a tetraciclina e a estreptomicina, inibem a síntese de proteínas por sua ação sobre os ribossomos 70S.
4. Os agentes antifúngicos atacam a membrana plasmática.
5. Alguns agentes inibem a síntese de ácidos nucleicos.
6. Agentes como as sulfanilamidas agem como antimetabólitos pela inibição competitiva da atividade enzimática.

Análise das drogas antimicrobianas comumente utilizadas (p. 559-572)

Antibióticos antibacterianos: inibidores da síntese de parede celular (p. 559-563)

1. Todas as penicilinas contêm um anel β-lactâmico.
2. As penicilinas naturais, produzidas por *Penicillium*, são efetivas contra cocos gram-positivos e espiroquetas.
3. As penicilinases (β-lactamases) são enzimas bacterianas que destroem as penicilinas naturais.
4. As penicilinas semissintéticas são feitas em laboratório pela adição de cadeias laterais ao anel β-lactâmico produzido pelo fungo.
5. As penicilinas semissintéticas são resistentes às penicilinases e possuem um espectro de ação mais amplo que as penicilinas naturais.
6. Os carbapenemos são antibióticos de amplo espectro que inibem a síntese de parede celular.
7. O monobactamo aztreonam afeta somente as bactérias gram-negativas.
8. As cefalosporinas inibem a síntese de parede celular e são usadas contra cepas resistentes à penicilina.
9. Os polipeptídeos como a bacitracina inibem a síntese de parede celular principalmente em bactérias gram-positivas.
10. A vancomicina inibe a síntese de parede celular e pode ser usada para matar cepas de estafilococos produtores de penicilinases.

Antibióticos antimicobacterianos (p. 563)

11. A isoniazida (INH) e o etambutol inibem a síntese de parede celular de micobactérias.

Inibidores da síntese proteica (p. 563-566)

12. Cloranfenicol, aminoglicosídeos, tetraciclinas, macrolídeos e estreptograminas inibem a síntese proteica nos ribossomos 70S.
13. Oxazolidinonas impedem a formação dos ribossomos 70S.

Dano à membrana plasmática (p. 566, 567)

14. Uma nova classe de antibióticos inibe a síntese de ácidos graxos, essenciais para as membranas plasmáticas.
15. A polimixina B e a bacitracina causam dano à membrana plasmática.

Inibidores da síntese de ácidos nucleicos (DNA/RNA) (p. 567)

16. A rifamicina inibe a síntese de mRNA e é usada para tratar a tuberculose.
17. As quinolonas e as fluoroquinolonas inibem a ação da DNA-girase e são usadas no tratamento de infecções urinárias.

Inibidores competitivos da síntese de metabólitos essenciais (p. 567)

18. As sulfonamidas inibem competitivamente a síntese de ácido fólico.
19. A associação TMP-SMZ inibe competitivamente a síntese de ácido di-hidrofólico.

Drogas antifúngicas (p. 567-569)

20. Os polienos, como a nistatina e a anfotericina B, combinam-se com os esteróis da membrana plasmática e são fungicidas.
21. Os azóis e as alilaminas interferem com a síntese de esteróis e são usados no tratamento de micoses cutâneas e sistêmicas.
22. As equinocandinas interferem com a síntese da parede celular fúngica.
23. O agente antifúngico flucitosina é um antimetabólito da citosina.
24. A griseofulvina interfere com a divisão da célula eucariótica e é usada principalmente no tratamento de infecções de pele causadas por fungos.

Drogas antivirais (p. 569-571)

25. Os análogos de nucleosídeos e nucleotídeos, como o aciclovir e a zidovudina, inibem a síntese de DNA ou RNA.
26. Os inibidores de enzimas virais são usados no tratamento de infecções causadas pelos vírus Influenza e HIV.
27. Os interferons-α inibem a propagação do vírus para novas células.

Drogas anti-helmínticas e antiprotozoóticas (p. 571, 572)

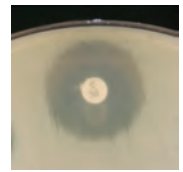
28. A cloroquina, a quinacrina, a diiodo-hidroxiquina, a pentamidina e o metronidazol são usados no tratamento de infecções por protozoários.
29. As drogas anti-helmínticas incluem o mebendazol, o praziquantel e a ivermectina.

Testes para orientar a quimioterapia

(p. 572, 573)

1. Os testes são usados para determinar quais agentes quimioterápicos são mais apropriados para combater um patógeno específico.
2. Esses testes são realizados quando a suscetibilidade não pode ser prevista ou quando surge resistência a drogas.

Métodos de difusão (p. 572)

3. No teste de disco-difusão, também conhecido como teste de Kirby-Bauer, uma cultura bacteriana é inoculada em um meio de ágar sólido, e discos de papéis de filtro impregnados com agentes quimioterápicos são colocados na superfície do meio.
4. Após incubação, o diâmetro da zona de inibição é usado para determinar se o organismo é sensível, intermediário ou resistente à droga.
5. A CIM é a menor concentração da droga capaz de evitar o crescimento microbiano e pode ser estimada utilizando o teste E.

Testes de diluição em meio líquido (p. 572, 573)

6. Nos testes de diluição em meio líquido, o micro-organismo é cultivado em caldo de crescimento contendo diferentes concentrações do agente quimioterápico.
7. A menor concentração do agente quimioterápico que mata as bactérias é chamada de concentração bactericida mínima (CBM).

Resistência a drogas antimicrobianas

(p. 573-576)

1. A resistência a drogas transmitida de forma hereditária (fator R) é carreada por plasmídeos e transposons.
2. A resistência pode ocorrer devido à destruição enzimática da droga, ao impedimento da penetração da droga no sítio de ação, às mudanças celulares ou metabólicas nos sítios-alvo da droga ou ao rápido efluxo do antibiótico.
3. A resistência pode ser minimizada pelo uso discriminado da droga em concentrações e dosagens apropriadas.

Uso seguro dos antibióticos (p. 576-578)

1. Os riscos (p. ex., efeitos colaterais) *versus* os benefícios (p. ex., a cura da infecção) precisam ser avaliados antes de se iniciar o uso dos antibióticos.

Efeitos da combinação de drogas (p. 578)

1. Algumas combinações de drogas são sinergísticas; elas são mais eficientes quando administradas em combinação.
2. Algumas combinações de drogas são antagônicas; quando combinadas as drogas se tornam menos eficientes do que quando administradas sozinhas.

O futuro dos agentes quimioterápicos

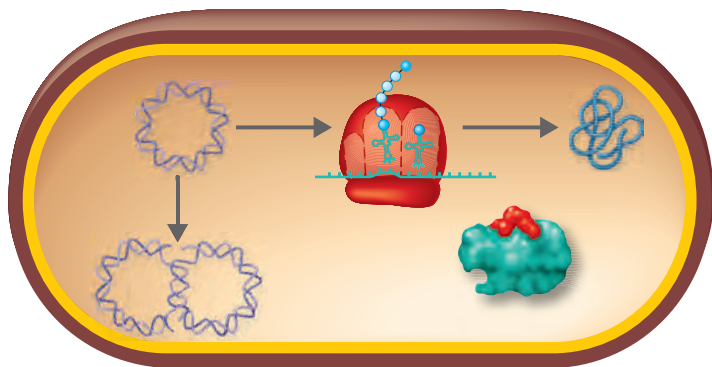
(p. 578-580)

1. Muitas doenças bacterianas, previamente tratadas com antibióticos, se tornaram resistentes aos antibióticos.
2. Substâncias químicas produzidas por plantas e animais estão fornecendo novos agentes antimicrobianos denominados peptídeos antimicrobianos.
3. A síntese de proteínas em patógenos pode ser bloqueada por siRNAs.
4. Novos agentes podem inibir fatores de virulência bacterianos.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Mostre onde os seguintes antibióticos funcionam: ciprofloxacina, tetraciclina, estreptomicina, vancomicina, polimixina B, sulfanilamida, rifampina e eritromicina.

2. Liste e explique cinco critérios usados para identificar um agente antimicrobiano efetivo.
3. Que problemas semelhantes são encontrados nas drogas antivirais, antifúngicas, antiprotozoóticas e anti-helmínticas?
4. Defina resistência a drogas. Como ocorre? Que medidas devem ser adotadas para minimizar a resistência a drogas?
5. Liste as vantagens da utilização simultânea de dois agentes quimioterápicos para o tratamento de uma doença. Que problemas podem ocorrer com o uso de duas drogas?
6. Por que uma célula morre após as seguintes ações antimicrobianas?
   a. Colistimetato se liga aos fosfolipídeos.
   b. Canamicina se liga aos ribossomos 70S.
7. Como cada uma das seguintes drogas inibe a tradução?
   a. Cloranfenicol
   b. Eritromicina
   c. Tetraciclina
   d. Estreptomicina
   e. Oxazolidinona
   f. Estreptogramina
8. A dideoxiinosina (ddI) é um antimetabólito da guanina. O radical –OH não está presente no carbono 3 em ddI. Como ddI inibe a síntese de DNA?
9. Compare o método de ação dos seguintes pares:
   a. Penicilina e equinocandina.
   b. Imidazol e polimixina B.

Múltipla escolha

1. Qual dos seguintes pares está errado?
   a. Anti-helmíntico – inibição da fosforilação oxidativa.
   b. Anti-helmíntico – inibição da síntese de parede celular.
   c. Antifúngico – dano à membrana plasmática.
   d. Antifúngico – inibição da mitose.
   e. Antiviral – inibição da síntese de DNA.
2. Todas as alternativas são modos de ação de drogas antivirais, exceto:
   a. Inibição da síntese proteica nos ribossomos 70S.
   b. Inibição da síntese de DNA.
   c. Inibição da síntese de RNA.
   d. Inibição do desnudamento.
   e. Nenhuma das alternativas.
3. Qual dos modos de ação a seguir não é antifúngico?
   a. Inibição da síntese de peptideoglicanos.
   b. Inibição da mitose.
   c. Dano à membrana plasmática.
   d. Inibição da síntese de ácidos nucleicos.
   e. Nenhuma das alternativas.
4. Um agente antimicrobiano deve preencher todos os critérios a seguir, exceto:
   a. Toxicidade seletiva.
   b. Produção de hipersensibilidade.
   c. Espectro de ação restrito.
   d. Ausência de geração de resistência.
   e. Nenhuma das alternativas.
5. A atividade antimicrobiana mais seletiva é exibida por uma droga que:
   a. Inibe a síntese de parede celular.
   b. Inibe a síntese de proteínas.
   c. Danifica a membrana plasmática.
   d. Inibe a síntese de ácidos nucleicos.
   e. Todas as alternativas.
6. Antibióticos que inibem a tradução exibem efeitos colaterais:
   a. Porque todas as células possuem proteínas.
   b. Somente nas poucas células que produzem proteínas.
   c. Porque células eucarióticas possuem ribossomos 80S.
   d. Nos ribossomos 70S das células eucarióticas.
   e. Nenhuma das alternativas.
7. Qual das alternativas não afeta uma célula eucariótica?
   a. Inibição do fuso mitótico.
   b. Ligação a esteróis.
   c. Ligação a ribossomos 80S.
   d. Ligação ao DNA.
   e. Todas as alternativas afetam as células.
8. Dano à membrana celular causa morte porque:
   a. A célula sofre lise osmótica.
   b. Os conteúdos celulares vazam.
   c. A célula sofre plasmólise.
   d. A célula não possui parede.
   e. Nenhuma das alternativas.
9. Uma droga que intercala ao DNA possui os seguintes efeitos. Qual deles leva aos outros?
   a. Interrompe a transcrição.
   b. Interrompe a tradução.
   c. Interfere na replicação do DNA.
   d. Causa mutações.
   e. Altera proteínas.
10. O cloranfenicol se liga à porção 50S de um ribossomo, o que interfere com:
    a. A transcrição em células procarióticas.
    b. A transcrição em células eucarióticas.
    c. A tradução em células procarióticas.
    d. A tradução em células eucarióticas.
    e. A síntese de DNA.

Pensamento crítico

1. Qual das opções abaixo pode afetar células humanas? Explique porque.
   a. Penicilina.
   b. Indinavir.
   c. Eritromicina.
   d. Polimixina.
2. Por que a idoxuridina é eficiente se as células hospedeiras também contêm DNA?
3. Algumas bactérias se tornaram resistentes à tetraciclina porque elas não produzem porinas. Por que um mutante deficiente em porina pode ser detectado por sua incapacidade de crescimento em um meio contendo uma única fonte de carbono, como o ácido succínico?
4. Os dados a seguir foram obtidos a partir de um teste de disco-difusão.

Antibiótico	Zona de inibição
A	15 mm
B	0 mm
C	7 mm
D	15 mm

   a. Qual dos antibióticos foi o mais eficiente contra a bactéria sendo testada?
   b. Qual dos antibióticos você recomendaria para tratar uma doença causada por esta bactéria?
   c. O antibiótico A foi bactericida ou bacteriostático? Como você chegou a essa conclusão?
5. Por que você acha que o *Streptomyces griseus* produz uma enzima que inativa a estreptomicina? Por que essa enzima é produzida nos estágios iniciais de seu metabolismo?
6. Os seguintes resultados foram obtidos em um teste de diluição em meio líquido para testar a suscetibilidade microbiana.

Concentração do antibiótico	Crescimento	Crescimento após subcultivo
200 μg/mL	–	–
100 μg/mL	–	+
50 μg/mL	+	+
25 μg/mL	+	+

   a. A CIM deste antibiótico é____________.
   b. A CBM deste antibiótico é____________.

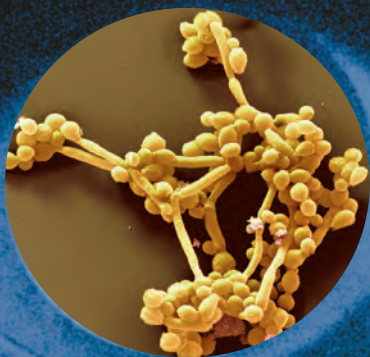
Aplicações clínicas

1. Dois pacientes receberam transplantes de córnea no olho direito no mesmo dia, no mesmo hospital e do mesmo doador. As córneas foram mantidas em uma solução contendo gentamicina e estreptomicina, e os transplantes foram realizados 48 horas após a coleta do tecido. Ambos os receptores das córneas desenvolveram infecções oculares causadas por *Clostridium perfringens* e foram tratados com gentamicina. A inflamação nos olhos persistiu. A infecção foi curada após a mudança do tratamento para penicilina G. O que você veria em uma coloração de Gram a partir de uma amostra dos olhos dos pacientes? Por que a primeira opção de tratamento não foi capaz de curar a infecção?
2. Uma paciente com uma infecção urinária na bexiga foi tratada com ácido nalidíxico, porém sem sucesso. Explique por que a infecção foi eliminada quando ela passou a ser tratada com uma sulfonamida.
3. Um paciente com dor de garganta causada por uma infecção estreptocócica tomou penicilina durante dois dias de um tratamento prescrito para 10 dias de medicação. Como ele se sentiu melhor, preferiu parar de tomar a droga e guardá-la para outra ocasião. Três dias após a interrupção, ele voltou a apresentar dor de garganta. Discuta a causa provável da recidiva.

21 Doenças Microbianas da Pele e dos Olhos

A pele, que cobre e protege o corpo, é a primeira linha de defesa do organismo contra os patógenos. Como uma barreira física, é quase impossível para os patógenos penetrá-la. Entretanto, os micróbios podem entrar através de pequenas aberturas, que não são imediatamente perceptíveis. Além disso, formas larvais de alguns parasitas podem penetrar a pele intacta.

A pele é um lugar inóspito para a maioria dos micro-organismos, pois as secreções são ácidas e a maior parte dela contém pouca umidade. Algumas partes do corpo, como as axilas e as áreas entre as pernas, possuem umidade suficiente para abrigar populações bacterianas relativamente grandes. Regiões mais secas, como o couro cabeludo, abrigam apenas um pequeno número de micro-organismos.

Além desses fatores ecológicos, a pele contém antibióticos peptídicos denominados *defensinas*, que possuem amplo espectro de atividade (veja a página 470). Elas são também encontradas em membranas mucosas, especialmente naquelas que revestem o trato gastrintestinal.

SOB O MICROSCÓPIO
Candida albicans, um fungo leveduriforme.

P&R

Como a morfologia da *Candida albicans* contribui para sua patogenicidade?

Procure pela resposta neste capítulo.

Estrutura e função da pele

OBJETIVO DO APRENDIZADO

21-1 Descrever as estruturas da pele e das membranas mucosas e as estratégias que os patógenos utilizam para invadir a pele.

A pele de um adulto médio ocupa uma área de cerca de 1,9 m^2 e varia em espessura de 0,05 a 3,0 mm. Como mencionamos no Capítulo 16, a pele é composta de duas partes principais, a epiderme e a derme (**Figura 21.1**). A **epiderme** é a parte mais fina e externa, composta de diversas camadas de células epiteliais. A camada mais externa da epiderme, o *stratum corneum*, consiste em várias fileiras de células mortas que contêm uma proteína à prova d'água, denominada **queratina**. A epiderme, quando intacta, é uma barreira física efetiva contra os micro-organismos.

A **derme**, a porção mais interna e relativamente espessa da pele, é composta principalmente de tecido conectivo. Os folículos pilosos e os ductos das glândulas sudoríparas e de óleo presentes na derme proporcionam uma via de passagem por onde os micro-organismos podem entrar nos tecidos mais profundos.

A *transpiração* fornece umidade e alguns nutrientes para o crescimento microbiano. Entretanto, ela também contém sal, capaz de inibir muitos micro-organismos, lisozima, uma enzima capaz de quebrar a parede celular de determinados micro-organismos, e peptídeos antimicrobianos.

O *sêbo*, secretado pelas glândulas sebáceas, é uma mistura de lipídeos (ácidos graxos insaturados), proteínas e sais que impede que a pele e os pelos ressequem. Embora os ácidos graxos possam inibir o crescimento de certos patógenos, o sêbo, assim como a transpiração, também é nutritivo para muitos micro-organismos.

Membranas mucosas

Nos revestimentos das cavidades do corpo, como nos tratos gastrintestinal, respiratório, urinário e genital, a barreira protetora mais externa difere da pele. Ela consiste em camadas de *células epiteliais* fortemente unidas. Essas células estão conectadas, em suas bases, a uma camada de material extracelular chamada de *membrana basal*. Muitas dessas células secretam **muco** – daí o nome **membrana mucosa**, ou simplesmente mucosa. Outras células mucosas possuem cílios e, no sistema respiratório, as camadas de muco prendem partículas, inclusive micro-organismos, que são transportadas pelos cílios e expelidas do corpo (veja a Figura 16.4, página 452). As membranas mucosas com frequência são ácidas, o que tende a limitar sua população microbiana. Além disso, as membranas dos olhos são mecanicamente lavadas pelas lágrimas, e a lisozima presente nesse fluido destrói as paredes celulares de certas bactérias. As membranas mucosas frequentemente são dobradas para maximizar a superfície. A área de mucosa total em um ser humano médio é de cerca de 400 m^2, muito maior que a superfície da pele.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A umidade fornecida pela transpiração estimula o crescimento microbiano na pele. Que fatores na transpiração inibem o crescimento microbiano? **21-1**

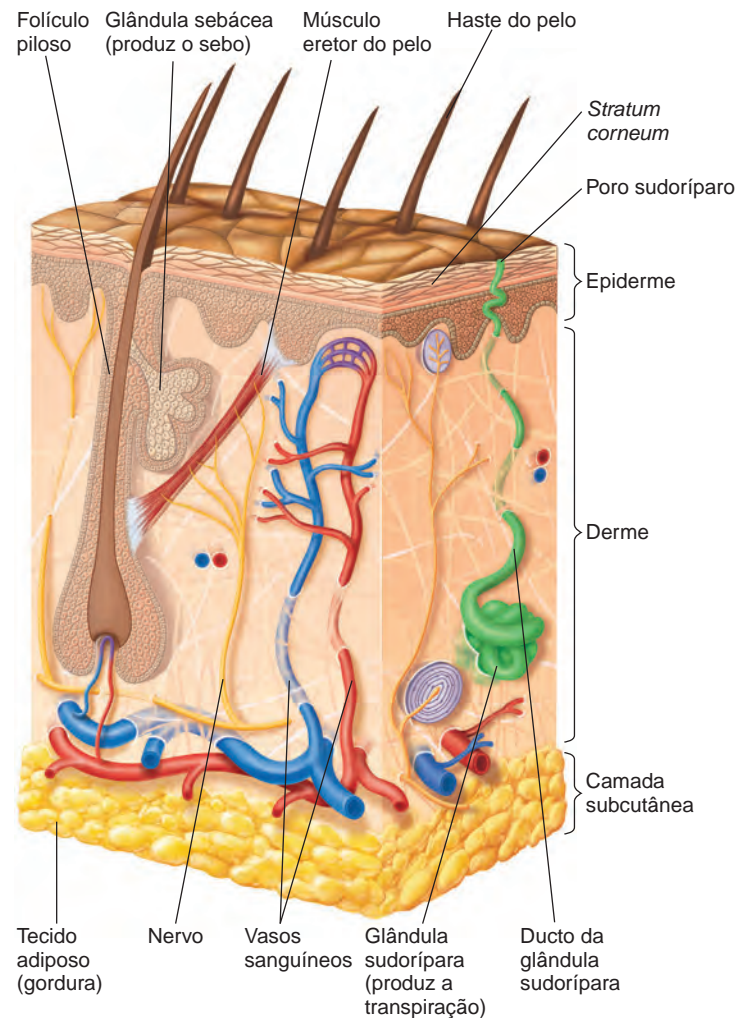



Figura 21.1 A estrutura da pele humana. Observe as aberturas entre o folículo piloso e a haste do pelo, através das quais micróbios podem penetrar até os tecidos mais profundos. Eles também podem entrar na pele através dos poros sudoríparos.

P Ao observar a figura, quais seriam os pontos fracos através dos quais os micróbios podem penetrar na pele intacta e alcançar os tecidos mais profundos?

Microbiota normal da pele

OBJETIVO DO APRENDIZADO

21-2 Fornecer exemplos da microbiota normal da pele e indicar as localizações gerais e os papéis ecológicos de seus membros.

Embora a pele normalmente seja inóspita para a maioria dos micro-organismos, ela dá suporte ao crescimento de certos micróbios que se estabeleceram como parte da microbiota normal. Na superfície da pele, algumas bactérias aeróbicas produzem ácidos graxos a partir do sebo. Estes ácidos inibem o crescimento de muitos outros micro-organismos e permitem que as bactérias melhor adaptadas floresçam.

Os micro-organismos que têm a pele como um ambiente satisfatório são resistentes ao ressecamento e a concentrações de sal relativamente altas. A microbiota normal da pele contém números relativamente altos de bactérias gram-positivas, como os estafilococos e os micrococos. Algumas dessas bactérias são capazes de crescer em concentrações de cloreto de sódio (sal de cozinha) de 7,5% ou mais. Micrografias eletrônicas de varredura mostram que as bactérias da pele tendem a crescer em pequenos agrupamentos. A lavagem vigorosa pode diminuir seu número sem, no entanto, eliminá-las. Os micro-organismos que restarem nos folículos pilosos e nas glândulas sudoríparas rapidamente restabelecem a população normal. As áreas do corpo que apresentam maior umidade, como as axilas e a região entre as pernas, têm populações maiores de micróbios, os quais metabolizam as secreções provenientes das glândulas sudoríparas e são os principais responsáveis pelo odor corporal.

Também fazem parte da microbiota normal da pele bacilos gram-positivos pleomórficos chamados de *difteroides*. Alguns difteroides, como o *Propionibacterium acnes*, são tipicamente anaeróbicos e habitam os folículos pilosos. Seu crescimento é mantido pelas secreções das glândulas sebáceas (sebo), que, como veremos, é um fator para o desenvolvimento da acne. Essas bactérias produzem ácido propiônico, o que ajuda a manter o pH baixo da pele, geralmente entre 3 e 5. Outros difteroides, como *Corynebacterium xerosis*, são aeróbicos e ocupam a superfície da pele. Uma levedura, a *Malassezia furfur*, capaz de crescer em secreções oleosas da pele, é considerada responsável pela condição descamativa da pele conhecida como *caspa*. Os xampus para o tratamento da caspa contêm o antibiótico cetoconazol, piritionato de zinco ou sulfeto de selênio. Todos são ativos contra a levedura.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ As bactérias da pele têm maior probabilidade de ser gram-positivas ou gram-negativas? **21-2**

Doenças microbianas da pele

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

21-3 Diferenciar estafilococos e estreptococos e nomear diversas infecções de pele causadas por cada um deles.

21-4 Listar o agente causal, o modo de transmissão e os sintomas clínicos da dermatite por *Pseudomonas*, das otites externas, da acne e da úlcera de Buruli.

21-5 Listar o agente causal, o modo de transmissão e os sintomas clínicos das seguintes infecções de pele: verrugas, varíola, varíola símia (*monkeypox*), varicela, herpes zoster, herpes labial, sarampo, rubéola, eritema infeccioso (quinta doença) e roséola infantil.

21-6 Diferenciar micoses cutâneas e subcutâneas e dar um exemplo de cada uma.

21-7 Listar o agente causal e os fatores predisponentes da candidíase.

21-8 Listar os agentes causais, o modo de transmissão, os sintomas clínicos e o tratamento para a sarna e a pediculose.

Erupções e lesões na pele não indicam necessariamente uma infecção; muitas doenças que se manifestam como lesões na pele são, na verdade, doenças sistêmicas que afetam órgãos internos. As variações dessas lesões geralmente são úteis para descrever os sintomas da doença. Por exemplo, lesões pequenas e cheias de fluido são chamadas de **vesículas** (**Figura 21.2a**). Vesículas com diâmetro maior que cerca de 1 cm são denominadas **bolhas** (**Figura 21.2b**). Lesões planas e avermelhadas são conhecidas como **máculas** (**Figura 21.2c**). Lesões elevadas são chamadas de **pápulas** ou, quando contêm pus, **pústulas** (**Figura 21.2d**). Embora o foco de infecção esteja com frequência em outra região do corpo, é conveniente classificar essas doenças pelo órgão mais obviamente afetado: a pele. Uma erupção de pele que surge de uma condição de doença é chamada de **exantema**; nas membranas mucosas, como o interior da boca, essas erupções são chamadas de **enantemas**.

Diagnósticos preliminares de doenças associadas à pele muitas vezes têm como base o surgimento de erupções; essas doenças estão resumidas em Doenças em Foco 21.1, 21.2 e 21.3.

Doenças bacterianas da pele

Dois gêneros de bactérias, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, são causas frequentes de doenças associadas à pele, merecendo discussão especial. Também discutiremos essas bactérias em capítulos subsequentes, em relação a outros órgãos e condições. Infecções superficiais da pele, causadas por estafilococos e estreptococos, são muito comuns. Essas bactérias com frequência entram em contato com a pele e se adaptam relativamente bem às condições encontradas no local. Ambos os gêneros possuem enzimas invasivas e são capazes de produzir toxinas.

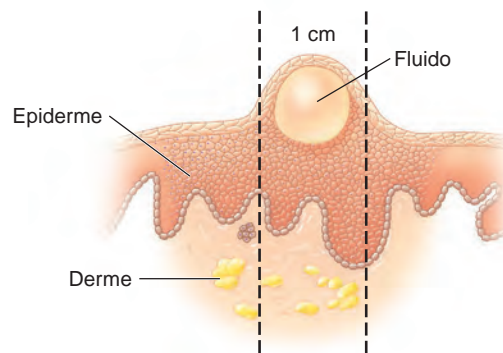
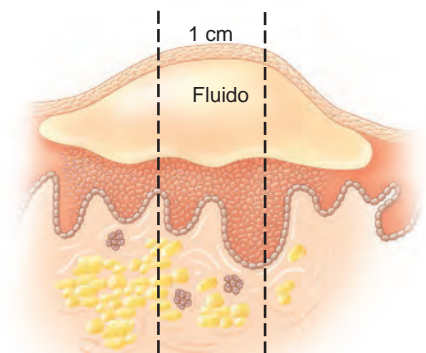
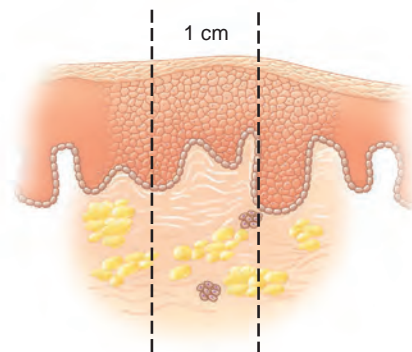
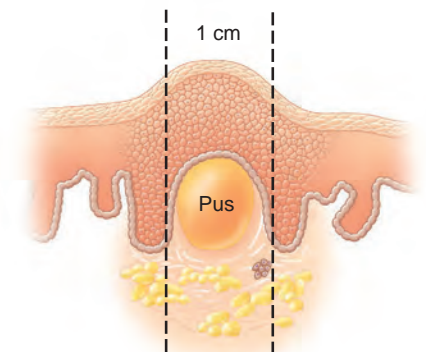
Infecções de pele por estafilococos

Os estafilococos são bactérias gram-positivas esféricas que formam agrupamentos irregulares como cachos de uva (veja a Figura 4.1d, página 78, e a Figura 11.18, página 318). Para quase todos os propósitos clínicos, essas bactérias podem ser divididas naquelas que produzem **coagulase**, uma enzima que coagula a fibrina no sangue, e naquelas que não o fazem.

Cepas coagulase-negativas, como o *Staphylococcus epidermidis*, são muito comuns na pele, onde representam cerca de 90% da microbiota normal. Elas geralmente são patogênicas apenas quando a barreira da pele é rompida ou invadida por procedimentos médicos, como a inserção e a remoção de cateteres venosos. Na superfície do cateter (**Figura 21.3**), as bactérias são circundadas por uma camada viscosa de material capsular (veja a discussão sobre biofilmes nas páginas 18 e 162). Esse é um fator essencial na sua importância como patógeno nosocomial, pois as bactérias ficam protegidas da ação de desinfetantes e do ressecamento.

O *S. aureus* é o mais patogênico dos estafilococos (veja também a discussão sobre MRSA no Capítulo 20). Essa bactéria é um residente permanente das passagens nasais de 20% da população, e cerca de 60% a carreiam ocasionalmente. Exposta em superfícies, ela pode sobreviver por meses. Tipicamente, forma colônias amarelo-douradas, e essa pigmentação é um fator protetor contra os efeitos antimicrobianos da luz solar. Mutantes que não apresentam a pigmentação também são mais suscetíveis à eliminação por neutrófilos.

Figura 21.2 Lesões de pele. **(a)** Vesículas são lesões pequenas e cheias de fluidos. **(b)** Bolhas são lesões maiores e cheias de fluido. **(c)** Máculas são lesões planas e frequentemente avermelhadas. **(d)** Pápulas são lesões elevadas; quando contêm pus, como mostrado, são chamadas de pústulas.

P Estas lesões de pele são exantemas ou enantemas?

Comparado ao seu parente mais inócuo, o *S. epidermidis*, o *S. aureus* apresenta cerca de 300.000 pares de base a mais em seu genoma – sendo que grande parte desse material genético adicional é responsável por uma gama impressionante de fatores de virulência e meios de evadir as defesas do hospedeiro. Quase todas as amostras patogênicas do *S. aureus* são coagulase-positivas. Existe alta correlação entre a habilidade da bactéria de produzir coagulase e a produção de toxinas danosas, várias das quais facilitam a disseminação do micro-organismo pelos tecidos, causam dano tecidual ou são letais para as defesas do hospedeiro. Além disso, algumas cepas podem causar sepse, gerando risco à vida (veja o Capítulo 23, página 639), e outras produzem enterotoxinas que afetam o trato gastrintestinal (veja o Capítulo 25, páginas 711 e 712).

Uma vez que o *S. aureus* infecta a pele, ele estimula uma resposta inflamatória vigorosa, e macrófagos e neutrófilos são atraídos para o sítio de infecção. Entretanto, a bactéria frequentemente consegue escapar dessas defesas normais do hospedeiro. A maioria das cepas do patógeno secreta uma proteína que bloqueia a quimiotaxia dos neutrófilos até o sítio de infecção, e, se a bactéria encontrar uma célula fagocítica, ela pode produzir toxinas capazes de matar essa célula. A bactéria é resistente à opsonização (veja a página 459), mas, se isso falhar, ela pode sobreviver bem dentro do fagossomo. Outras proteínas que ela secreta são capazes de neutralizar a ação das defensinas, peptídeos antimicrobianos da pele, e sua parede celular é resistente à lisozima (veja a página 88). A bactéria eventualmente se apresenta ao sistema imune como um

(a) Superfície do cateter com bactérias aderidas. O biofilme, em verde-claro, começa a surgir.

(b) A maioria das bactérias produtoras de limo não é visível sob o biofilme.

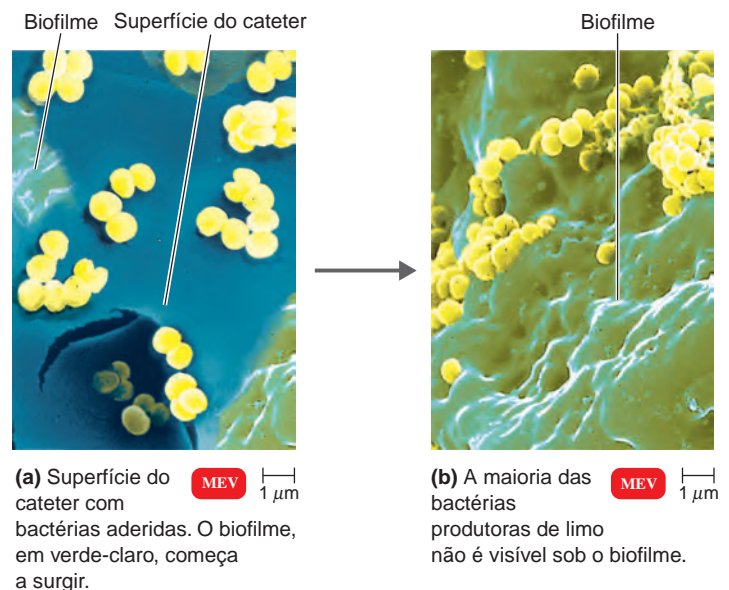



Figura 21.3 Estafilococos coagulase-negativos. Estas bactérias produtoras de limo se aderem a superfícies como os cateteres plásticos da foto. Uma vez aderidas à superfície, **(a)** elas começam a se dividir. Eventualmente, **(b)** toda a superfície é coberta com um biofilme contendo os micro-organismos.

P Qual a fonte mais provável da bactéria que cresceu no cateter?

Figura 21.4 **Lesões causadas pelo impetigo.** Essa doença é caracterizada por pústulas isoladas que se tornam crostas.

P **Que outras bactérias também causam o impetigo?**

Figura 21.5 **Lesões da síndrome da pele escaldada.** Alguns estafilococos produzem toxinas que fazem com que a pele se descame em camadas, como nas mãos de um recém-nascido. A doença é especialmente prevalente em crianças com menos de dois anos.

P **Qual o nome da toxina que produz esta síndrome?**

superantígeno (veja a página 436), mas com frequência é capaz de evadir inteiramente o sistema imune adaptativo. Todos os seres humanos possuem anticorpos contra o *S. aureus*, mas não são capazes de prevenir efetivamente infecções reincidentes. Cepas resistentes a antibióticos surgiram e são muito difíceis de tratar (veja as páginas 563 e 574). Essas cepas causam, atualmente, infecções em hospitais e nas comunidades (veja o quadro na página 593).

Por estar tão comumente associado às passagens nasais, esse micro-organismo com frequência é transportado de lá para a pele. Uma vez na pele, ele pode entrar no corpo através das aberturas naturais da barreira cutânea, como os folículos pilosos – veja a Figura 21.1. Essas infecções, ou **foliculites**, ocorrem normalmente como espinhas ou pelos encravados. Um folículo infectado nos cílios é chamado de **hordéolo**.* Uma infecção mais séria dos folículos pilosos é o **furúnculo**, que é um tipo de **abscesso**, uma região localizada de pus circundado por tecido inflamado. Os antibióticos não penetram bem nos abscessos, fazendo com que a infecção seja de difícil tratamento. A drenagem de pus desses abscessos com frequência é um passo preliminar para um tratamento de sucesso.

Quando o organismo não consegue isolar o furúnculo, tecidos vizinhos podem ser progressivamente invadidos. O dano extensivo resultante é chamado de **carbúnculo**, uma massa endurecida e profundamente inflamada de tecido sob a pele. Nesse estágio, o paciente normalmente apresenta sintomas de doença generalizada, como febre.

Os estafilococos são os mais importantes agentes causadores do **impetigo**. Essa é uma infecção de pele altamente infecciosa que afeta principalmente crianças de 2 a 5 anos, entre as quais se dissemina por contato direto. O *Streptococcus pyogenes*, patógeno que discutiremos em breve, também pode causar o impetigo, embora com menos frequência. Às vezes, tanto *S. aureus* como *S. pyogenes* estão envolvidos. A doença pode se apresentar de duas formas, sendo o *impetigo não bolhoso* (veja a bolha na Figura 21.2b) a mais comum. O patógeno normalmente entra na pele através de pequenas rupturas ou ferimentos. A infecção também pode se espalhar para áreas adjacentes – processo denominado *autoinoculação*. Os sintomas resultam da resposta do hospedeiro à infecção. As lesões eventualmente se rompem e formam crostas de coloração clara, como mostrado na **Figura 21.4**. Antibióticos tópicos são aplicados às vezes, mas as lesões tendem a curar sem tratamento e sem deixar cicatrizes.

O outro tipo de impetigo, o *impetigo bolhoso*, é causado por uma toxina estafilocócica. Ele representa uma forma localizada da **síndrome da pele escaldada** estafilocócica. Na verdade, existem dois sorotipos da toxina: a toxina A, que permanece localizada e causa o impetigo bolhoso, e a toxina B, que circula para sítios distantes e causa a síndrome da pele escaldada. Ambas as toxinas causam a separação das camadas da pele, ou *esfoliação* (veja a **Figura 21.5**). Surtos de impetigo bolhoso representam um problema frequente em berçários de hospitais, onde a condição é conhecida como *pemphigus neonatorum*, ou **impetigo do neonato** (veja a discussão sobre hexaclorofeno no Capítulo 7, página 196).

A síndrome da pele escaldada também é característica dos estágios mais tardios da **síndrome do choque tóxico** (**SCT**). Nessa condição potencialmente fatal, febre, vômitos e erupções semelhantes a queimaduras solares são seguidos de choque e, eventualmente, falência de órgãos, em especial os rins. A SCT se tornou conhecida como resultado da associação entre o crescimento estafilocócico e o uso de um novo tipo de tampão vaginal altamente absorvente. Essa correlação é especialmente alta se o tampão permanece no lugar por um tempo muito longo. Um nova toxina estafilocócica chamada de *toxina da síndrome do choque tóxico 1* (*TSCT-1*) é produzida no local do crescimento bacteriano e se espalha pela corrente sanguínea.

* N. de T. O hordéolo é popularmente conhecido como terçol.

DOENÇAS EM FOCO 21.1

Erupções maculares

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Por exemplo, um menino de quatro anos apresentando histórico de tosse, conjuntivite e febre (38,3°C) agora apresenta uma erupção macular que iniciou na face e no pescoço e em seguida se espalhou para o resto do corpo. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Sintomas	Método de transmissão	Tratamento
DOENÇAS VIRAIS. Normalmente diagnosticadas por sinais e sintomas clínicos, podendo ser confirmadas por sorologia ou PCR.					
Sarampo	Vírus do sarampo	Trato respiratório	Erupção na pele, formada por máculas que primeiramente aparecem na face, se espalhando, em seguida, para o tronco e as extremidades.	Aerossol	Sem tratamento; proteção via pré-exposição ou vacinação.
Rubéola	Vírus da rubéola	Trato respiratório	Doença macular leve que se apresenta como uma erupção semelhante ao sarampo, porém menos extensa, e desaparece em três dias ou menos.	Aerossol	Sem tratamento; proteção via pré-exposição ou vacinação.
Eritema infeccioso	Parvovírus humano B19	Trato respiratório	Doença leve que se apresenta como uma erupção macular facial.	Aerossol	Nenhum
Roséola infantil	Herpesvírus humano 6 Herpesvírus humano 7	Trato respiratório	Febre alta seguida de erupção macular no corpo.	Aerossol	Nenhum
DOENÇAS FÚNGICAS. Confirmadas por coloração de Gram ou raspados de pele.					
Candidíase	*Candida* albicans	Pele e membranas mucosas	Erupção macular	Contato direto; infecção endógena	Miconazol, clotrimozol (topicamente)

Acredita-se que os sintomas sejam o resultado das propriedades superantigênicas da toxina (veja a discussão sobre superantígenos na página 436).

Hoje, apenas uma minoria dos casos de SCT está associada à menstruação. A SCT não menstrual ocorre por infecções estafilocócicas que se seguem a cirurgias nasais, nas quais bandagens absorventes são utilizadas, depois das incisões cirúrgicas, e em mulheres que acabaram de dar à luz.

Infecções de pele por estreptococos

Os estreptococos são bactérias gram-positivas e esféricas. Diferentemente dos estafilococos, as células estreptocócicas normalmente crescem em cadeias (veja a Figura 11.19, página 318). Antes da divisão, um coco individual se alonga no eixo da cadeia, e então se divide (veja a Figura 4.1a, página 78). Os estreptococos causam um amplo espectro de condições clínicas, além daquelas abordadas neste capítulo, incluindo meningite, pneumonia, dor de garganta, otite média, endocardite, febre puerperal e mesmo cáries dentárias.

À medida que os estreptococos crescem, eles secretam toxinas e enzimas, fatores de virulência que variam de acordo com cada espécie de estreptococos. Entre essas toxinas destaca-se a *hemolisina*, que é capaz de lisar eritrócitos. Dependendo do tipo de hemolisina que produzem, os estreptococos podem ser categorizados como alfa-hemolíticos, beta-hemolíticos ou gama-hemolíticos (atualmente chamados de não hemolíticos) (veja a Figura 6.9, página 168). As hemolisinas podem lisar não somente os eritrócitos, mas quase todos os tipos de célula. Não se sabe, no entanto, que papel elas teriam na patogenicidade estreptocócica.

Os estreptococos beta-hemolíticos frequentemente são associados a doenças humanas. Esse grupo pode ser subdividido em grupos sorológicos, designados de A a T, de acordo com os carboidratos antigênicos de suas paredes celulares. Os estreptococos do grupo A (GAS, de *Group A Streptococci*), que são sinônimos da

DOENÇAS EM FOCO 21.2

Erupções vesiculares e pustulares

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Por exemplo, um menino de 8 anos apresenta uma erupção que consiste em lesões vesiculares no pescoço e na região do estômago, com duração de cinco dias. Dentro de cinco dias, 73 estudantes em sua escola de ensino fundamental tiveram doenças que se assemelham à definição de caso dessa doença. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Sintomas	Métodos de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS. Normalmente diagnosticadas por cultivo da bactéria.					
Impetigo	*Staphylococcus aureus*	Pele	Vesículas na pele	Contato direto; fômites	Antibióticos tópicos
DOENÇAS VIRAIS. Normalmente diagnosticadas por sinais e sintomas clínicos, podendo ser confirmadas por sorologia ou PCR.					
Varíola	*Variola virus*	Trato respiratório	Pústulas na pele que podem ser quase confluentes.	Aerossol	Nenhum
Varíola símia (*Monkeypox*)	*Monkeypox virus*	Trato respiratório	Pústulas, similar à varíola.	Contato direto com pequenos mamíferos infectados ou aerossol produzido por eles.	Nenhum
Varicela	*Varicella-zoster virus*	Trato respiratório	Vesículas, na maioria dos casos confinadas a face, pescoço, garganta e costas.	Aerossol	Aciclovir para pacientes imunodeprimidos; proteção via pré-exposição ou vacinação.
Herpes zoster	*Varicella-zoster virus*	Infecção endógena dos nervos periféricos*	Vesículas tipicamente distribuídas em apenas um lado da cintura, face, escalpo ou peito.	Recorrência de infecção por varicela latente.	Aciclovir; vacinação preventiva.
Herpes simples	Herpes-vírus humano tipo 1	Pele e membranas mucosas	Vesículas ao redor da boca; pode também afetar outras áreas da pele e membranas mucosas.	Infecção primária por contato direto; recorrência da infecção latente.	Aciclovir

* Infecções endógenas são aquelas causadas por micro-organismos que fazem parte da microbiota do hospedeiro.

espécie *Streptococcus pyogenes*, são os estreptococos beta-hemolíticos mais importantes. Eles estão entre os patógenos humanos mais comuns e são responsáveis por uma variedade de doenças humanas – algumas fatais. Esse grupo de patógenos é dividido em mais de 80 tipos imunológicos, de acordo com as propriedades antigênicas da proteína M encontrada em algumas cepas (**Figura 21.6**). Essa proteína está localizada na parte externa da parede celular, em uma camada repleta de fibrilas. A proteína M evita a ativação do complemento e permite ao micróbio evitar a fagocitose e a morte por ação dos neutrófilos (veja a página 454). Ela também parece auxiliar a bactéria a se aderir e colonizar as membranas mucosas. Outro fator de virulência dos GAS é sua cápsula de ácido hialurônico. Amostras muito virulentas apresentam uma aparência mucoide em placas de ágar-sangue devido à sua pesada encapsulação e à presença da proteína M. O ácido hialurônico é pouco imunogênico (se assemelha aos tecidos conectivos humanos) e somente alguns anticorpos contra a cápsula são produzidos.

As bactérias do GAS produzem substâncias que promovem a rápida dispersão da infecção através dos tecidos e pelo pus liquefeito. Entre elas estão as *estreptocinases* (enzimas que dissolvem coágulos sanguíneos), a *hialuronidase* (enzima que degrada o ácido hialurônico dos tecidos conectivos, dissolvendo-o uma vez que serve para manter as células unidas) e as *deoxirribonucleases* (enzimas que degradam o DNA). Esses estreptococos também produzem certas enzimas, denominadas *estreptolisinas*, que lisam eritrócitos e são tóxicas para neutrófilos.

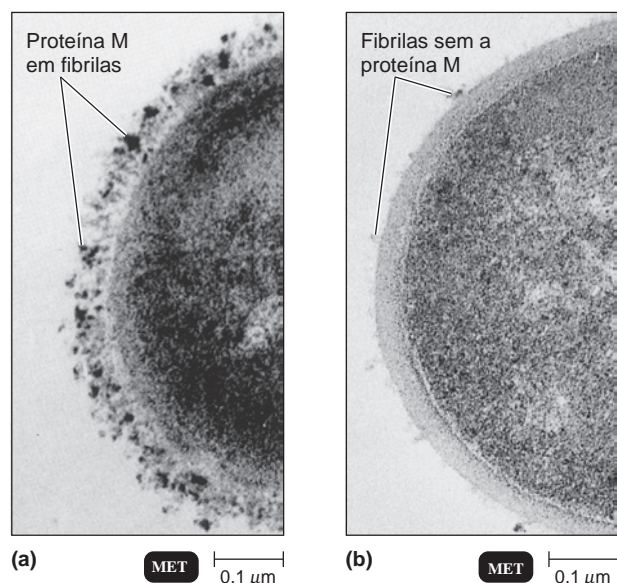



Figura 21.6 Proteína M de estreptococos beta-hemolíticos do grupo A. **(a)** Parte de uma célula que possui a proteína M em uma camada repleta de fibrilas. **(b)** Parte de uma célula que não possui a proteína M.

P A proteína M apresenta maior probabilidade de ser imunogênica do que polissacarídeos capsulares?

Infecções de pele causadas por estreptococos geralmente são localizadas, mas, se as bactérias atingirem tecidos mais profundos, elas podem ser altamente destrutivas.

Quando o *S. pyogenes* infecta as camadas da derme, ele pode causar uma doença séria, denominada **erisipela**. Nessa doença, a pele apresenta erupções formadas por placas avermelhadas e de bordas elevadas (**Figura 21.7**). A doença pode progredir e causar a destruição de tecidos locais ou mesmo atingir a corrente sanguínea, causando sepse (página 639). A infecção em geral inicia na face e frequentemente é precedida por dor de garganta estreptocócica. Febre alta é comum. Felizmente, *S. pyogenes* tem permanecido sensível a antibióticos β-lactâmicos, em especial a cefalosporina.

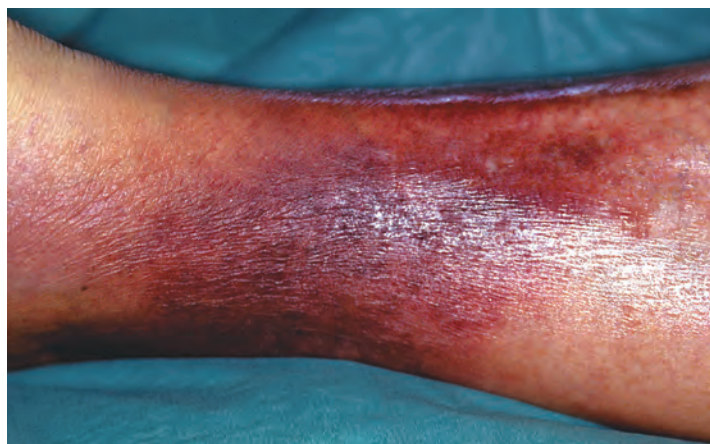



Figura 21.7 Lesões de erisipela, causada por toxinas produzidas por estreptococos beta-hemolíticos do grupo A.

P Qual o nome da toxina que produz a vermelhidão na pele?

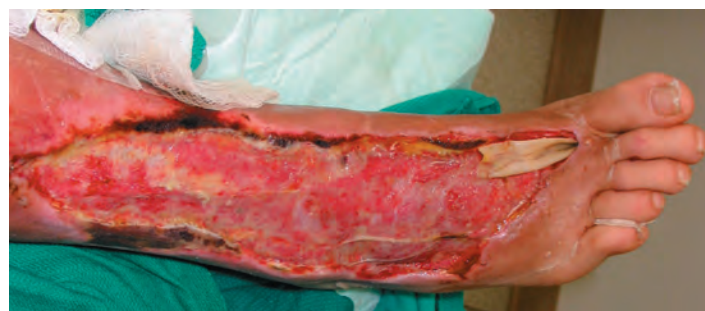



Figura 21.8 Fasciite necrosante devido à infecção por estreptococos do grupo A. Danos extensivos podem requerer cirurgias reconstrutivas ou até mesmo a amputação de membros.

P Qual o nome da toxina primária que leva à invasão de tecidos pelo patógeno?

Cerca de 15.000 casos de infecções invasivas causadas por estreptococos do grupo A, a "bactéria comedora de carne", acontecem todos os anos nos Estados Unidos. A infecção pode iniciar por pequenas rupturas na pele, e os sintomas precoces com frequência são ignorados, o que atrasa o diagnóstico e o tratamento, gerando sérias consequências. Uma vez estabelecida a infecção, episódios de **fasciite necrosante** (**Figura 21.8**) podem destruir tecidos tão rapidamente quanto um cirurgião pode removê-los, e a taxa de mortalidade por choques sistêmicos pode ser maior que 40%. Os estreptococos são considerados os mais comuns agentes causadores de doenças, embora outras bactérias possam causar condições semelhantes. Um fator importante é a produção de uma toxina, a *exotoxina A*, por determinadas cepas de estreptococos que possuem a proteína M. Essa exotoxina age como um superantígeno, estimulando o sistema imune a contribuir para a extensão do dano. Antibióticos de amplo espectro costumam ser prescritos pela possibilidade de múltiplos patógenos bacterianos estarem presentes.

A fasciite necrosante frequentemente é associada à **síndrome do choque tóxico estreptocócica** (**SCT estreptocócica**), que é muito semelhante à SCT estafilocócica, descrita na página 588. Nos casos de SCT estreptocócica, uma erupção tem menor probabilidade de estar presente, mas a bacteremia é mais provável de ocorrer. Proteínas M liberadas das superfícies desses estreptococos formam complexos com o fibrinogênio que se liga aos neutrófilos. Isso causa a ativação dos neutrófilos e precipita a liberação de enzimas danosas, com consequente choque e dano a órgãos.

Infecções por *Pseudomonas*

As pseudomonas são bacilos bacterianos gram-positivas, aeróbicos, amplamente distribuídos no solo e em fontes de água. Capazes de crescer em qualquer ambiente úmido, essas bactérias podem crescer em traços de matérias orgânicas pouco comuns, como filmes de sabão ou adesivos selantes, e são resistentes a muitos antibióticos e desinfetantes. A espécie mais proeminente do grupo é a *Pseudomonas aeruginosa*, considerada um modelo de patógeno oportunista.

DOENÇAS EM FOCO 21.3

Vermelhidão em placas e condições semelhantes a espinhas

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Por exemplo, um menino de 11 meses apresentou um histórico de erupção vermelha e pruriginosa sob os braços que já durava uma semana. Ele parecia mais incomodado à noite e não apresentava febre. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Sintomas	Método de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS. Normalmente diagnosticadas por cultivo da bactéria.					
Foliculite	*Staphylococcus aureus*	Folículo piloso	Infecção do folículo piloso	Contato direto; fômites; infecção endógena*	Drenagem de pus; antibióticos tópicos
Síndrome do choque tóxico	*Staphylococcus aureus*	Incisões cirúrgicas	Febre, erupção e choque	Infecção endógena*	Antibióticos, dependendo do perfil de sensibilidade
Fasciite necrosante	*Streptococcus pyogenes*	Abrasões na pele	Destruição extensa de tecidos moles	Contato direto	Remoção cirúrgica de tecido; antibióticos de amplo espectro
Erisipela	*Streptococcus pyogenes*	Pele; membranas mucosas	Placas avermelhadas na pele; febre alta frequente	Infecção endógena*	Cefalosporina
Dermatite por *Pseudomonas*	*Pseudomonas aeruginosa*	Abrasões na pele	Erupção superficial	Água de piscinas e similares; banheiras	Infecção normalmente autolimitada
Otite externa	*Pseudomonas aeruginosa*	Ouvido	Infecção superficial do canal auditivo externo	Água de piscinas e similares	Fluoroquinolonas
Acne	*Propionibacterium acnes*	Ductos sebáceos	Lesões inflamatórias originadas do acúmulo de sebo e que rompem um folículo piloso	Contato direto	Peróxido de benzoíla, isotretinoína, ácido azeláico
Úlcera de Buruli	*Mycobacterium ulcerans*	Pele	Inchaço ou endurecimento localizado do tecido que progride para uma úlcera profunda	Água contaminada	Drogas antimicobacterianas
DOENÇAS VIRAIS. Normalmente diagnosticadas por sinais e sintomas.					
Verrugas	*Papilomavirus*	Pele	Projeção córnea da pele formada pela proliferação de células	Contato direto	Podem ser removidas por crioterapia com nitrogênio líquido, eletrodessecação, ácidos, *laser*
DOENÇAS FÚNGICAS. Diagnóstico confirmado por exame microscópico.					
Tíneas	*Microsporum, Trichophyton, Epidermophyton* spp.	Pele	Lesões de pele de aparência variada; no escalpo, pode causar perda local de pelos	Contato direto; fômites	Griseofulvina (oralmente); miconazol e clotrimazol (topicamente)
Esporotricose	*Sporothrix schenkii*	Abrasões na pele	Úlceras no local da infecção que se espalham pelos vasos linfáticos próximos	Solo	Solução de iodeto de potássio (oralmente)
INFESTAÇÕES PARASITÁRIAS. O diagnóstico é confirmado por exame microscópico do parasita.					
Sarna	*Sarcoptes scabiei* (ácaro)	Pele	Pápulas e prurido	Contato direto	Hexacloreto de gama benzeno, permetrin (topicamente)
Pediculose (piolhos)	*Pediculus humanus capitis*	Pele	Prurido	Principalmente por contato direto; possíveis fômites como roupas de cama e pentes	Preparações inseticidas tópicas

* Infecções endógenas são aquelas causadas por micro-organismos que fazem parte da microbiota do hospedeiro.

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Infecções nos ginásios

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os epidemiologistas se perguntam quando tentam descobrir a fonte de um surto. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. Um jogador de futebol americano colegial de 21 anos visitou o centro médico de seu colégio. Ele apresentava uma área de vermelhidão de 11 × 5 cm na coxa direita. O local estava inchado, quente e sensível ao toque. A temperatura corporal estava normal. Ele foi medicado com trimetoprim--sulfametoxazol.

Qual seria seu diagnóstico?

2. Depois de dois dias, ele retornou dizendo que a região afetada havia piorado. O exame revelou uma área ainda maior de vermelhidão. Ele foi diagnosticado como tendo celulite. A pústula foi aberta e drenada.

O que você precisaria saber agora?

3. O resultado da coloração pelo método de Gram do pus coletado está mostrado na **Figura A**. Um teste de coagulase também foi realizado em cultura (**Figura B**).

Qual a causa da infecção?

4. A presença de cocos gram-positivos e coagulase-positivos sugere que o micro--organismo é o *Staphylococcus aureus.*

Qual o tratamento recomendado?

5. Os resultados do teste de sensibilidade são mostrados na **Figura C** (P = penicilina, M = meticilina, E = eritromicina, V = vancomicina, X = trimetoprim-sulfametoxazol).

Qual tratamento é o mais apropriado?

6. Em um período de três meses, 10 membros do time de futebol americano do colégio e também da equipe de esgrima visitaram o centro médico apresentando celulite. Sete deles foram hospitalizados e um teve que receber debridamento da lesão e enxertos de pele.

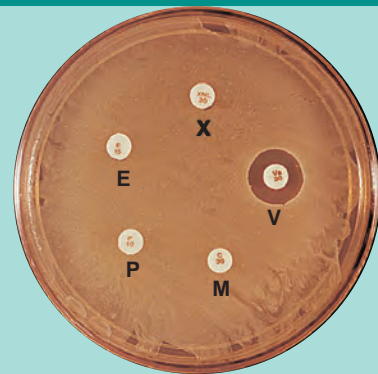
Qual a fonte mais provável dos *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSAs)?

Figura A

Controle negativo Isolado do paciente

Figura B

Figura C

Embora a investigação relatada neste artigo não tenha determinado de forma definitiva as raízes da transmissão de MRSA, três fatores podem ter contribuído para a transmissão nesse surto. Primeiro, a ocorrência de abrasões e outros traumas da pele, que facilitam a entrada de patógenos, é comum em alguns esportes. Em segundo lugar, alguns esportes apresentam contato físico frequente entre os atletas. O *S. aureus* e outros membros da microbiota da pele podem ser facilmente transmitidos de pessoa-a-pessoa por contato direto. Em terceiro lugar, a utilização conjunta de equipamentos ou outros itens pessoais que não são lavados entre cada utilização poderia ser um veículo para a transmissão de *S. aureus*.

Investigações sobre surtos de MRSA entre jogadores profissionais de futebol americano (2004) e basebol (2005) mostraram que todas as infecções ocorriam em locais de abrasões na pele e rapidamente progrediam para grandes abscessos, os quais eram drenados cirurgicamente. Os MRSAs foram isolados de banheiras de hidromassagem, géis diversos e *swab* nasal de 35 dos 84 jogadores e membros de comissão testados.

A recorrência das infecções poderia ser evitada se os médicos fizessem culturas microbianas de rotina quando os atletas apresentam ferimentos infectados.

Fontes: Adaptado de *MMWR* 52(33):793-795, 22 de agosto, 2003; *MMWR* 55(24):677-679, 23 de junho, 2006.

As pseudomonas causam frequentes surtos de dermatite (**dermatite por *Pseudomonas***). Trata-se de uma erupção autolimitada com duração de cerca de duas semanas, em geral associada ao uso de piscinas, saunas e banheiras.

Quando muitas pessoas utilizam esses locais, a alcalinidade do meio aumenta e o cloro fica menos efetivo; ao mesmo tempo, a concentração de nutrientes dissolvidos aumenta, o que dá suporte ao crescimento de *Pseudomonas*. A água quente faz com que os folículos pilosos se abram ainda mais, facilitando a entrada dessas bactérias. Nadadores com frequência são incomodados por **otites externas**, ou "*ouvido de nadador*", uma infecção dolorosa da parte externa do canal auditivo e que muitas vezes é causada pelas *Pseudomonas*.

A *P. aeruginosa* produz diversas exotoxinas, que são responsáveis pela maior parte de sua patogenicidade, e uma endotoxina. A *P. aeruginosa* frequentemente cresce em densos biofilmes (veja a Figura B, página 57) que contribuem para sua identificação recorrente como causa de infecções nosocomiais de cateteres ou aparelhos médicos. Essa bactéria também é um sério patógeno oportunista para pacientes com fibrose cística pulmonar de origem genética, e a formação de biofilmes é determinante nessa condição.

A *P. aeruginosa* também é um patógeno oportunista importante para pacientes queimados, particularmente para aqueles com queimaduras de segundo e terceiro graus. As infecções podem gerar pus de coloração azul-esverdeada. Essa coloração é o resultado da produção do pigmento **piocianina**. Também gera preocupação

para os profissionais que trabalham em hospitais a facilidade com que *P. aeruginosa* se multiplica em vasos de flores, água de lavagem dos pisos e mesmo em desinfetantes diluídos.

A resistência relativa aos antibióticos que caracteriza as pseudomonas ainda representa um problema. Entretanto, recentemente vários antibióticos têm sido desenvolvidos, e a quimioterapia para tratar essas infecções já não é tão restrita como antigamente. As quinolonas e novos antibióticos β-lactâmicos específicos para *Pseudomonas* costumam ser as drogas de escolha. A sulfadiazina de prata é bastante útil no tratamento de queimaduras infectadas por *P. aeruginosa*.

Úlcera de Buruli

A **úlcera de Buruli**, cujo nome deriva de uma região da Uganda recentemente renomeada, é uma doença encontrada principalmente na África Central e do Oeste. Também é encontrada em áreas temperadas e tropicais pontuais por todo o mundo – incluindo México, Austrália e algumas regiões da América do Sul. A doença é causada pelo *Mycobacterium ulcerans*, um micro-organismo muito similar às micobactérias que causam a tuberculose e a lepra. Quando o patógeno entra na pele, ele causa uma doença de progresso lento e que apresenta poucos sinais e sintomas precoces graves. Eventualmente, no entanto, o resultado é a formação de uma úlcera profunda que com frequência se torna massiva e seriamente danosa. Quando não tratada, a infecção pode se tornar extensa, a ponto de requerer cirurgia plástica ou amputação do membro. O dano tecidual é atribuído à produção de uma toxina, a *micolactona*. Epidemiologicamente, a infecção está associada ao contato com águas paradas ou provenientes de pântanos.

A incidência da doença tem crescido e atualmente excede a da lepra e, em algumas áreas, até mesma da tuberculose. A Organização Mundial da Saúde recentemente classificou a doença como um risco global à saúde pública.

A úlcera de Buruli é diagnosticada principalmente pelo aparecimento da úlcera, embora a vigilância seja maior em áreas endêmicas, sendo tratada por drogas antimicobacterianas como combinações de estreptomicina e rifampicina.

Acne

A **acne** provavelmente é a doença de pele mais comum em seres humanos, afetando cerca de 17 milhões de pessoas apenas nos Estados Unidos. Mais de 85% dos adolescentes apresentam esse problema em algum grau. A acne pode ser classificada pelo tipo de lesão em três categorias: acne comedonal, acne inflamatória e acne cística nodular, as quais requerem diferentes tratamentos.

Normalmente, células da pele que descamam dentro de um folículo piloso podem ser eliminadas do corpo. Entretanto, a acne se desenvolve quando um número de células maior do que o normal descama e se combina com o sebo, gerando uma mistura que entope o folículo. À medida que o sebo se acumula, pontos brancos (comedos) são formados; se o bloqueio se projeta através da pele, uma massa de ponta escura (comedone ou comedo aberto) se forma. A coloração escura da extremidade do comedone não é causada por sujeira, mas pela oxidação de lipídeos, entre outras causas. Agentes tópicos não afetam a formação do sebo, que é a causa primária da acne e depende da presença de hormônios como estrogênios e androgênios. A dieta não apresenta nenhum efeito conhecido na produção de sebo, mas gravidez, alguns contraceptivos hormonais e mudanças hormonais decorrentes da idade podem reduzir a formação do sebo.

A **acne comedonal** (**leve**) em geral é tratada com agentes tópicos como ácido azeláico (Azelex), preparações de ácido salicílico ou retinoides (que são derivados da vitamina A, como a tretinoína, o tazaroteno [Tazorac] ou o adapaleno [Differin]). Esses agentes tópicos não afetam a produção de sebo.

A **acne inflamatória** (**moderada**) é originada da ação bacteriana, em especial do *Propionibacterium acnes*, um difteroide anaeróbico comumente encontrado na pele. O *P. acnes* tem uma necessidade nutricional pelo glicerol presente no sebo; ao metabolizar o sebo, os ácidos graxos livres gerados causam uma resposta inflamatória. Neutrófilos secretores de enzimas que danificam a parede dos folículos pilosos são atraídos para o local. A inflamação resultante leva ao surgimento de pústulas e pápulas. Nesse estágio, a terapia é focada na prevenção da produção de sebo (agentes tópicos não são eficientes nesse caso). Uma droga que reduz a formação de sebo é a isotretinoína (Accutane). Infelizmente, essa droga é *teratogênica*, o que significa que causa danos graves ao feto em desenvolvimento em uma mulher grávida. Cerca de um terço dos bebês que nascem após exposição à droga apresentará níveis trágicos de danos. Devido a esses efeitos colaterais importantes, a isotretinoína em geral é reservada para os casos de acne mais severos.

A acne inflamatória também pode ser tratada com antibióticos que afetam o *P. acnes*. Os tratamentos não prescritos para acne, de uso familiar, com base no peróxido de benzoíla, normalmente são efetivos contra algumas bactérias, em especial o *P. acnes*. Além disso, a droga causa o ressecamento da pele, o que auxilia na liberação dos folículos entupidos. O peróxido de benzoíla também está disponível na forma de géis e em produtos combinados com antibióticos como a clindamicina (BenzaClin) e a eritromicina (Benzamycin). Alternativas aos tratamentos químicos têm sido aprovadas pelos órgãos reguladores norte-americanos para o tratamento de casos de acne leve a moderada. O sistema *Clear Light*, que se baseia na exposição da pele à luz azul de alta intensidade (405 a 420 μm), e o tratamento *Smoothbeam*, que utiliza raios *laser*, penetram na superfície da pele para acelerar a cicatrização e prevenir a formação de espinhas. Também foi aprovado recentemente um aparelho portátil, denominado *ThermoClear*, que libera um pequeno pulso de calor nas lesões.

Alguns pacientes com acne podem progredir para a forma denominada **acne cística nodular** (**severa**). Essa forma da doença é caracterizada pela presença de nódulos ou cistos, que são lesões profundas, inflamadas e cheias de pus na pele (**Figura 21.9**). Essas lesões deixam cicatrizes proeminentes na face e no tronco, o que com frequência também deixa cicatrizes psicológicas. O mais importante no tratamento da acne cística é a droga isotretinoína, que normalmente resulta em melhorias significativas – mas que, como mencionado anteriormente, deve ser usada com extremo cuidado, para evitar a administração em mulheres grávidas, mesmo que por apenas alguns dias.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual espécie bacteriana apresenta, como fator de virulência, a proteína M? **21-3**

✓ Qual o nome comum da otite externa? **21-4**

Figura 21.9 **Acne severa.**

P **A isotretinoína com frequência leva a uma melhoria significativa nos casos de acne severa, porém que precauções devem ser tomadas?**

Doenças virais da pele

Muitas doenças virais, embora sistêmicas e transmitidas por via respiratória ou outras vias, têm seus efeitos mais aparentes na pele.

Verrugas

As **verrugas**, ou papilomas, geralmente são, crescimentos cutâneos benignos causados por vírus. Há muito tempo se sabe que as verrugas podem ser transmitidas de uma pessoa para outra por contato, até mesmo sexual. No entanto, somente em 1949 os vírus foram identificados nos tecidos de verrugas. Atualmente, mais de 50 tipos de papilomavírus são conhecidos, causando diferentes tipos de verrugas, com grande variação de aparência.

Após a infecção, há um período de incubação de várias semanas antes que as verrugas apareçam. Os métodos de tratamento médico mais comuns para as verrugas incluem a aplicação de nitrogênio líquido extremamente frio (crioterapia), sua dessecação com corrente elétrica (eletrodessecação) ou a utilização de ácidos para queimá-las. Existem evidências de que compostos contendo ácido salicílico são especialmente efetivos. Aplicações tópicas de drogas prescritas, como podofilox ou imiquimod (Aldara), com frequência são eficientes, sendo que o último estimula a produção de interferons de efeito antiviral. As verrugas que não respondem a nenhum outro tratamento podem ser tratadas com *laser* ou injeções de bleomicina, uma droga antitumoral.

Embora as verrugas não sejam uma forma de câncer, alguns cânceres de pele e cervicais estão associados à infecção por papilomavírus. A incidência de verrugas genitais (veja o Capítulo 26) já atingiu proporções epidêmicas.

Figura 21.10 **Lesões de varíola.** Em alguns casos graves, as lesões praticamente se unem (se tornam confluentes).

P **Como essas lesões diferem daquelas causadas pela varicela?**

Varíola (*Smallpox**)

Na Idade Média, estima-se que 80% da população na Europa contraíram **varíola** em algum momento de suas vidas. Aqueles que sobreviviam à infecção adquiriam cicatrizes desfigurantes. A doença, introduzida pelos colonizadores da América, foi ainda mais devastadora para os índios norte-americanos, que nunca haviam entrado em contato com a doença e assim apresentavam pouca resistência.

A varíola é causada por um vírus do gênero *Orthopoxvirus* denominado *Variola virus*. Existem duas formas básicas da doença: a **varíola maior**, com taxa de mortalidade de 20% ou mais, e a **varíola menor**, com uma taxa de mortalidade de menos de 1% (a varíola menor surgiu por volta de 1900).

Transmitidos pela via respiratória, os vírus infectam muitos órgãos internos antes que eventualmente alcancem a corrente sanguínea, infectando então a pele e causando sintomas mais reconhecíveis. O crescimento do vírus nas camadas da epiderme causa lesões que se tornam pustulares por volta do décimo dia de infecção (**Figura 21.10**).

A varíola foi a primeira doença contra a qual a imunidade foi artificialmente induzida (veja as páginas 11 e 501) e a primeira a ser erradicada da população humana. Acredita-se que a última vítima de um caso natural de varíola tenha sido um indivíduo que se recuperou da varíola menor na Somália em 1977. (No entanto, dez meses depois desse caso, houve uma fatalidade causada pela varíola na Inglaterra, a partir de vírus que escaparam de um laboratório de pesquisa em um hospital.) A erradicação da varíola foi possível porque não existem reservatórios animais para a infecção. Uma campanha de vacinação mundial foi coordenada pela Organização Mundial da Saúde.

Hoje, apenas dois locais mantêm o vírus da varíola em suas instalações, um nos Estados Unidos e outro na Rússia. Datas para a destruição desses estoques foram estabelecidas e depois adiadas.

A varíola seria especialmente perigosa se usada como agente de bioterrorismo. A vacinação nos Estados Unidos** terminou na década de 1970. As pessoas que foram vacinadas antes do término da campanha de vacinação possuem uma imunidade que está perdendo sua força, embora provavelmente ainda possuam algum tipo de proteção que seria suficiente para, pelo menos, moderar o impacto da doença.

---

* A origem do nome em inglês da varíola, *smallpox*, surgiu no século XV na França, onde a sífilis tinha acabado de ser introduzida. Os pacientes com sífilis apresentavam erupções severas na pele chamadas de *la grosse verole,* ou "grande cicatriz". As erupções eram comparadas a uma doença endêmica da época, que fora, então, denominada *la petite verole*, ou "pequena cicatriz" (*smallpox*). Dessa forma, a doença ficou conhecida como *smallpox*.

** N. de T. Assim como no Brasil.

Estoques da vacina contra a varíola estão atualmente sendo acumulados por precaução. Nenhum programa geral de vacinação da população está sendo considerado. Entretanto, alguns grupos populacionais específicos, entre eles os militares e os profissionais da saúde, são vacinados em alguns países. Se administrada à população em geral, a vacina poderia causar um número significativo de mortes, especialmente entre indivíduos imunocomprometidos.

Pesquisas por drogas antivirais que seriam efetivas estão em andamento. Uma droga endovenosa, o cidofovir, é um dos candidatos sendo investigado. A falta de pacientes sintomáticos de varíola impede que testes significativos sejam realizados; ensaios laboratoriais eficazes não indicam, necessariamente, que os efeitos em seres humanos seriam os mesmos.

Com o desaparecimento da varíola tem existido certa preocupação com uma doença semelhante, a **varíola símia** (*monkeypox*). Essa doença surgiu primeiramente em zoológicos, entre macacos oriundos da África e do leste da Ásia. Nesses locais, o vírus é endêmico e circula em pequenos animais. Surtos ocasionais ocorrem em seres humanos vivendo nessas áreas, e um surto envolvendo mais de 50 casos nos Estados Unidos, em 2003, foi atribuído ao contato com cães-da-pradaria adquiridos como animais de estimação. Eles aparentemente foram infectados ao serem mantidos em uma loja de animais onde também havia ratos gigantes de Gâmbia, importados da África ocidental. Os sintomas da varíola símia são muito semelhantes aos da varíola humana e, quando a varíola humana ainda era endêmica, muitos casos foram provavelmente confundidos. A taxa de mortalidade da varíola símia em seres humanos tipicamente é de 1 a 10% em adultos africanos, sendo maior ainda entre crianças. No surto acontecido nos Estados Unidos não houve mortes. O *Monkeypox virus*, como o *Variola virus*, é um *Orthopoxvirus*, e a vacinação contra a varíola apresenta um efeito protetor contra o primeiro. O vírus da varíola símia é conhecido por ser transmitido de animais para seres humanos, mas felizmente sua transmissão entre os seres humanos é bastante limitada. A Organização Mundial da Saúde monitora surtos recentes da doença, em especial para avaliar se a transmissão entre as pessoas está aumentando.

Varicela (catapora) e herpes zoster

A **varicela** é uma doença infantil relativamente branda. A taxa de mortalidade é muito baixa e normalmente está associada a complicações como encefalites (infecção do cérebro) ou pneumonias. Quase metade das mortes acontecem entre adultos.

A varicela (**Figura 21.11a**) resulta da infecção inicial pelo herpesvírus varicela zoster (o nome oficial, porém pouco usado, é *human herpesvirus 3* – ou herpesvírus humano tipo 3; veja o Capítulo 13. Encontraremos outros herpesvírus para os quais tanto o nome oficial quanto o nome vernacular serão indicados). A doença é adquirida quando o vírus entra no trato respiratório, e a infecção se localiza nas células da pele dentro de cerca de duas semanas. A pele infectada apresenta lesões vesiculares com duração de 3 a 4 dias. Durante esse período, as lesões se enchem de pus, se rompem e formam crostas antes de cicatrizarem. Elas são concentradas principalmente na face, na garganta e nas costas, mas também podem ocorrer no peito e nos ombros. Se a infecção pelo vírus que causa a varicela acontece durante o início da gravidez, podem ocorrer danos graves ao feto em cerca de 2% dos casos.

A **síndrome de Reye** é uma complicação severa ocasional de catapora, gripe ou outras doenças virais. Alguns dias depois que a infecção inicial tiver cedido, o paciente passa a apresentar vômito persistente e exibe sinais de disfunção cerebral, extrema sonolência e comportamento agressivo, seguidos eventualmente de coma e morte. Em um determinado período, a taxa de mortalidade dos casos relatados se aproximou de 90%, mas essa taxa tem diminuído pela melhoria dos tratamentos, atingindo atualmente cerca de 30% ou menos, principalmente quando a doença é reconhecida e tratada a tempo. Os sobreviventes podem apresentar dano neurológico, em especial se forem muito jovens. A síndrome de Reye afeta quase exclusivamente crianças e adolescentes. O uso de aspirina para baixar a febre em casos de varicela ou gripe aumenta as chances de desenvolvimento da síndrome de Reye.

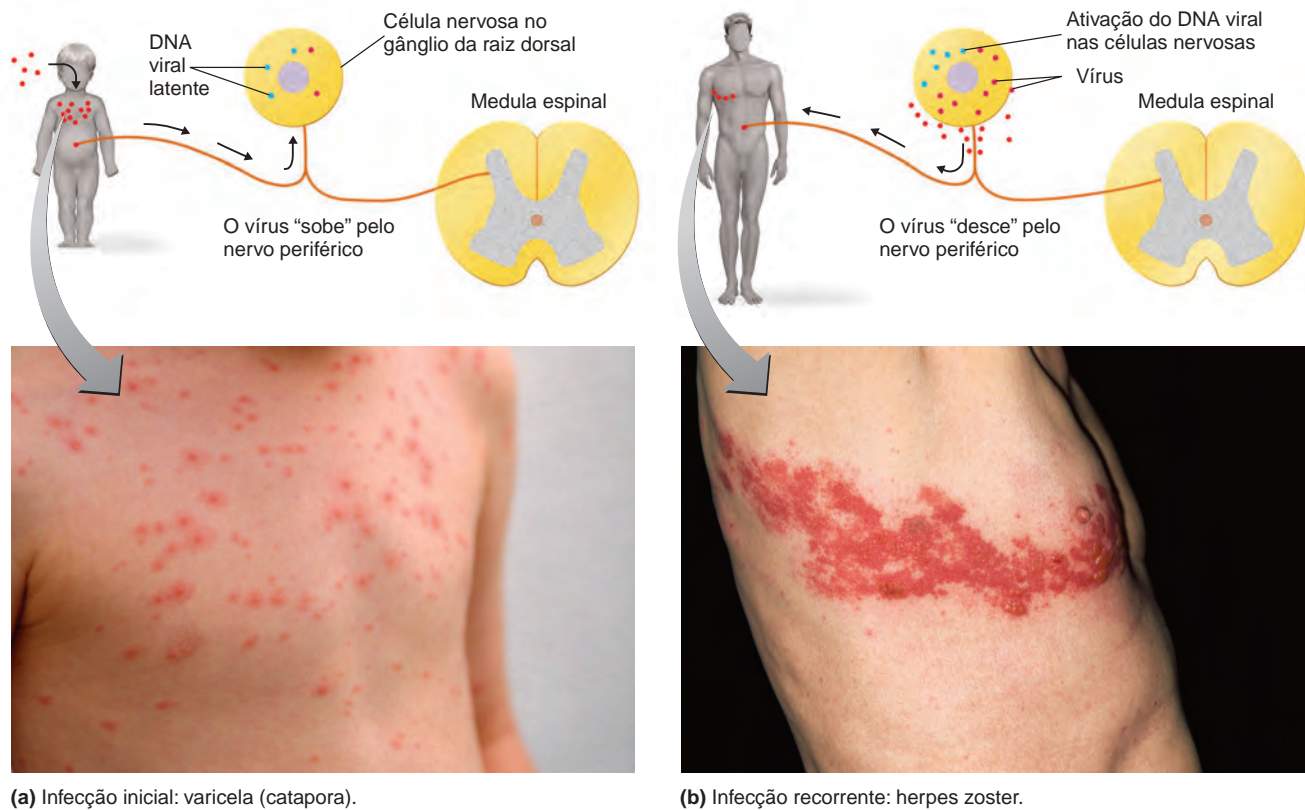
Como todos os herpesvírus, uma das características do vírus varicela zoster é sua habilidade de permanecer latente dentro do organismo. Após uma infecção primária, o vírus penetra os nervos periféricos e se move para um gânglio nervoso central (grupo de células nervosas localizadas fora do sistema nervoso central), onde persiste na forma de DNA viral. Os anticorpos humorais não entram nas células nervosas e, como os antígenos virais não são expressos na superfície da célula nervosa, as células T citotóxicas não são ativadas. Portanto, nenhum dos braços do sistema imune perturba o vírus latente.

Os vírus varicela zoster latentes se localizam nos gânglios da raiz dorsal, próximos à espinha. Mais tarde, possivelmente décadas depois de entrar em latência, o vírus pode ser reativado (**Figura 21.11b**). O catalisador da reativação pode ser o estresse ou simplesmente a diminuição da competência imune relacionada ao envelhecimento. Os vírions produzidos a partir do DNA reativado se movem ao longo dos nervos periféricos até os nervos sensoriais cutâneos, onde causam um novo episódio de infecção viral na forma de **herpes zoster**.

No herpes zoster, vesículas similares àquelas produzidas durante a varicela ocorrem, porém localizadas em áreas distintas. Essas lesões tipicamente são distribuídas ao redor da cintura (o nome da doença em inglês, *shingles*, é derivado da palavra latina *cingulum*, que significa cinto), embora lesões faciais e na parte superior do peito e das costas também possam ocorrer (veja a Figura 21.11b). A infecção segue a distribuição do nervo sensorial cutâneo afetado, normalmente estando limitada a apenas um lado do corpo, uma vez que esses nervos são unilaterais. Ocasionalmente essas infecções nos nervos podem resultar em dano nervoso, afetando a visão, por exemplo, ou mesmo causando paralisia. Sensação de queimação e dores severas são sintomas frequentes, podendo persistir por meses ou anos, uma condição denominada *neuralgia pós-herpética*.

O herpes zoster é simplesmente uma forma clínica diferente do vírus que causa a varicela – diferente porque o paciente, já tendo tido catapora, apresenta imunidade parcial ao vírus. A exposição de crianças a lesões de herpes zoster faz com que contraiam varicela. O herpes zoster raramente ocorre em pessoas com menos de 20 anos, e a maior incidência ocorre entre adultos mais velhos. É pouco comum que um paciente apresente herpes zoster mais de uma vez.

As drogas antivirais aciclovir, valaciclovir e fanciclovir são aprovadas para o tratamento do herpes zoster. No caso de pacientes imunossuprimidos, entre os quais a taxa de mortalidade alcança 17%, e naqueles em que há acometimento visual, o tratamento com antivirais é mandatório.

Uma vacina composta por vírus vivos e atenuados foi licenciada em 1995. Desde então, os casos da doença têm diminuído sistematicamente. No entanto, existem evidências de que a efetividade da vacina, que é de cerca de 97%, diminui com o tempo.

(a) Infecção inicial: varicela (catapora).

(b) Infecção recorrente: herpes zoster.

Figura 21.11 Varicela (catapora) e herpes zoster. (a) A infecção inicial pelo vírus, normalmente na infância, causa a varicela. As lesões são vesiculares, transformando-se eventualmente em pústulas, que se rompem e formam crostas. O vírus então se move para um gânglio da raiz dorsal, próximo à espinha, onde permanece latente indefinidamente. **(b)** Mais tarde, normalmente na idade adulta mais tardia, os vírus latentes são reativados, causando o herpes zoster. A reativação pode ser causada por estresse ou enfraquecimento do sistema imune. As lesões de pele são vesiculares.

P **A foto mostrada em (a) ilustra um estágio precoce ou tardio da varicela?**

A falta de um efeito de reforço resultante da exposição a novos casos de varicela é um fator preponderante para isso. Portanto, a varicela em pessoas previamente vacinadas, chamada de **varicela em vacinados**, está se tornando relativamente comum. Devido ao fato de a vacina ser pelo menos parcialmente eficaz, esses são casos brandos, com o surgimento de erupções que não se parecem muito com a varicela típica. Uma dose de reforço da vacina pode eventualmente ser necessária para se alcançar o controle completo da doença.

Outra preocupação existente é se o enfraquecimento gradual da imunidade conferida pela vacinação na infância irá gerar uma população de adultos suscetíveis, nos quais a doença tende a ser mais grave. Portanto, a recomendação atual é que adultos com mais de 60 anos recebam uma nova dose da vacina recentemente aprovada, a *vacina zoster*, mesmo que já tenham tido varicela ou herpes zoster.

Herpes simples

Os vírus do herpes simples (HSV, de *Herpes Simplex Virus*) podem ser divididos em dois grupos identificáveis, HSV-1 e HSV-2. O nome vírus do herpes simples, usado aqui, é o nome comum ou vernacular. Os nomes oficiais são *herpesvírus 1* e *2*. O HSV-1 é transmitido principalmente pelas vias orais ou respiratórias, e a infecção normalmente acontece na infância. Estudos sorológicos mostram que 90% da população dos Estados Unidos já foram infectados. A infecção com frequência é subclínica, mas muitos casos levam ao desenvolvimento de lesões conhecidas como **herpes labial**. Essas lesões são dolorosas, formadas por vesículas de curta duração que ocorrem próximas à margem vermelha dos lábios (**Figura 21.12**).

O herpes labial, causado por infecções herpéticas, frequentemente é confundido com as **úlceras bucais**, ou **aftas**, cuja etiologia ainda é desconhecida, embora sua ocorrência muitas vezes esteja associada a fatores como o estresse e a menstruação. Embora as lesões da afta sejam semelhantes às do herpes labial, as primeiras normalmente surgem em regiões diferentes. As aftas ocorrem como lesões dolorosas em membranas mucosas móveis, como na língua, nas bochechas e na parte interna dos lábios. Elas normalmente curam em alguns dias, mas com frequência são recorrentes.

O HSV-1 normalmente permanece latente no gânglio do nervo trigêmeo, que faz a comunicação entre a face e o sistema nervoso central (**Figura 21.13**). A recorrência pode ser ativada por eventos como exposição excessiva à radiação ultravioleta do

Figura 21.12 **Herpes labial, causado pelo Vírus herpes simples.** As lesões se localizam principalmente nas margens da região vermelha dos lábios.

P **Por que o herpes labial pode reaparecer? Por que ele recorre no mesmo local?**

Figura 21.13 **Sítio de latência do herpesvírus humano tipo 1 nos gânglios do nervo trigêmeo.**

P **Por que esse sistema nervoso se chama *trigêmeo*?**

sol, problemas emocionais e mudanças hormonais associadas à menstruação.

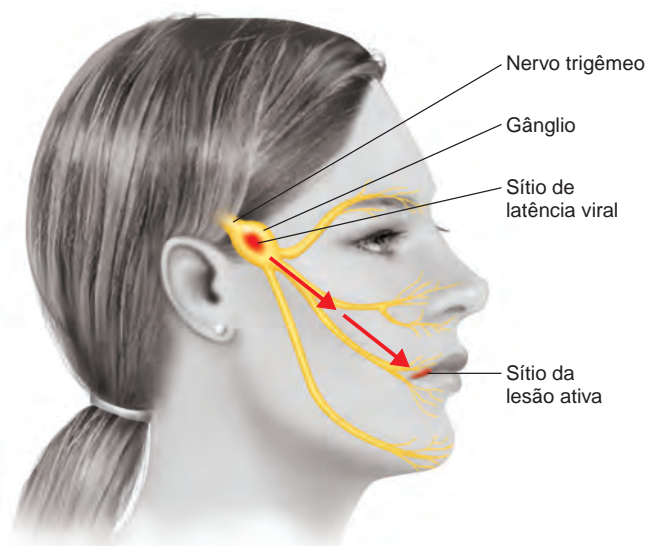
As infecções pelo HSV-1 podem ser transmitidas pelo contato de pele entre lutadores, o que justifica o termo **herpes *gladiatorum*.** De fato, uma incidência de até 3% tem sido relatada entre praticantes de lutas olímpicas nas escolas norte-americanas. Enfermeiros, médicos e dentistas são suscetíveis à **infecção ocupacional** pelo HSV-1 pelo contato com lesões herpéticas. Crianças com úlceras herpéticas orais também são mais suscetíveis.

Um vírus bastante similar, o HSV-2, é transmitido principalmente por contato sexual. Ele é o agente causador usual do herpes genital (veja o Capítulo 26). O HSV-2 se diferencia do HSV-1 por sua constituição antigênica e por seus efeitos em células cultivadas. O vírus fica latente no gânglio do nervo sacral, localizado próximo à medula espinal, uma localização diferente do HSV-1.

Muito raramente, qualquer um dos dois tipos de vírus herpes simples pode se alastrar para o cérebro, causando a **encefalite herpética**. Nesses casos, as infecções pelo HSV-2 são mais graves, com uma taxa de mortalidade de até 70% quando não tratadas. Somente 10% dos sobreviventes se recuperam totalmente. Quando administrado imediatamente, o aciclovir com frequência leva à cura da encefalite. Ainda assim, a taxa de mortalidade em um determinado surto se manteve em 28%, e somente 38% dos sobreviventes não apresentaram danos neurológicos sérios.

Sarampo

O **sarampo** é uma doença viral altamente contagiosa que se dissemina por via respiratória. Devido ao fato de que uma pessoa com sarampo é infecciosa mesmo antes que os sintomas surjam, a quarentena não é uma medida eficaz para se prevenir um surto.

A vacina contra o sarampo, administrada como parte da vacina tríplice viral (MMR – de *measles*, *mumps* e *rubella*, sarampo, caxumba e rubéola), praticamente eliminou o sarampo dos Estados Unidos. Os casos da doença diminuíram de estimados 5 milhões anuais (400.000 foram relatados, na verdade) para quase nenhum.* Assim como no caso da varíola, não existe reservatório animal para o sarampo, mas, como o vírus é muito mais infeccioso que a varíola, a imunidade grupal tem se mostrado difícil de obter. Desse modo, o objetivo mundial atual é o controle do sarampo pela vacinação, em vez da erradicação. Essa abordagem tem gerado algum sucesso; em comparação aos 873.000 óbitos relatados mundialmente em 1999, ocorreram 345.000 em 2005. A meta é uma redução de 90% na mortalidade até 2010 (veja o quadro no Capítulo 18, página 505).

Embora a vacina tenha uma taxa de efetividade de cerca de 95%, casos de infecção continuam a ocorrer em pessoas que não obtêm ou retêm boa imunidade. Algumas dessas infecções são causadas pelo contato com pessoas provenientes de fora dos Estados Unidos.**

Um resultado inesperado da vacina contra o sarampo é o número de casos que ocorrem hoje em crianças com menos de um ano. O sarampo é especialmente perigoso para essas crianças, que são mais propensas a apresentarem complicações. Nos dias anteriores ao uso da vacina, o sarampo era muito raro nessa idade, pois as crianças eram protegidas por anticorpos maternos gerados pelo contato prévio da mãe com a doença. Infelizmente, os anticorpos maternos produzidos em resposta à vacinação não são tão eficientes em prover proteção como aqueles desenvolvidos em resposta à doença. Uma vez que a vacina não é eficiente quando administrada em bebês, a vacinação não é feita antes dos 12 meses de idade, o que deixa as crianças vulneráveis por um período significativo.

---

* N. de T. No Brasil, o sarampo está praticamente controlado em razão da campanha de intensificação da vacinação, efetiva desde a década de 1990. O último surto no país, com 15 casos, aconteceu em 2000, e o último caso endógeno (adquirido dentro do país) registrado também ocorreu no ano de 2000.

** N. de T. De áreas onde o sarampo ainda é endêmico, como a África oriental e a Ásia setentrional.

Figura 21.14 Erupção de pequenas manchas vermelhas típicas do sarampo. A erupção normalmente inicia na face e se dissemina para o tronco e as extremidades.

P Por que a erradicação do sarampo é potencialmente possível?

O desenvolvimento do sarampo é similar ao da varíola e da varicela. A infecção inicia no trato respiratório superior. Depois de um período de incubação de 10 a 12 dias, sintomas semelhantes a um resfriado se desenvolvem. Em seguida, a erupção macular aparece, iniciando na face e se espalhando para o troco e as extremidades (**Figura 21.14**). Lesões na cavidade oral incluem as *manchas de Koplik*, pequenas manchas vermelhas com pontos centrais azul-esbranquiçados. Essas manchas surgem na região mucosa próxima aos molares, e sua presença é um indicador diagnóstico da doença (veja Doenças em Foco 21.1).

O sarampo é uma doença muito perigosa, especialmente em crianças e pessoas idosas. Ela com frequência é complicada por infecções do ouvido médio ou pneumonias causadas pelo próprio vírus ou por infecções bacterianas secundárias. Casos de encefalite acometem cerca de 1 em 1.000 vítimas do sarampo, e os sobreviventes costumam apresentar danos cerebrais permanentes. Aproximadamente 1 em 3.000 casos é fatal, a maioria sendo crianças. Uma complicação rara do sarampo (cerca de 1 em 1.000.000 de casos) é a **panencefalite esclerosante subaguda**, que acomete principalmente os homens. A doença surge de 1 a 10 anos após a recuperação do sarampo. O desenvolvimento de sintomas neurológicos severos e morte ocorrem dentro de poucos anos.

Figura 21.15 O exantema de manchas vermelhas característico da rubéola. As manchas não são elevadas em relação à pele circundante.

P O que é síndrome da rubéola congênita?

Rubéola

A **rubéola**, também chamada de *sarampo alemão* (em virtude de ter sido inicialmente descrita por médicos alemães no século XVIII), é uma doença viral muito mais branda que o sarampo, e frequentemente pode ocorrer de forma subclínica. Os sintomas comuns incluem uma erupção macular constituída de pequenas manchas vermelhas e febre baixa (**Figura 21.15**). As complicações são raras, mas encefalites podem ocorrer em cerca de 1 em 6.000 casos, a maioria sendo adultos. O vírus é transmitido por via respiratória, e um período de incubação de 2 a 3 semanas é o padrão. A recuperação de casos clínicos ou subclínicos parece gerar uma imunidade firme.

A seriedade da rubéola não foi considerada até 1941, quando alguns defeitos de nascimento graves foram associados à infecção da mãe no primeiro trimestre da gravidez, uma condição denominada **síndrome da rubéola congênita**. Se uma mulher grávida contrai a doença durante esse período, existe cerca de 35% de chance de que ocorram sérios danos ao feto, incluindo surdez, catarata, defeitos cardíacos, retardo mental e morte. Por volta de 15% dos bebês nascidos com a síndrome da rubéola congêntita morrem durante o primeiro ano. As duas últimas epidemias de rubéola nos Estados Unidos aconteceram nos anos de 1964 e 1965. Pelo menos 20.000 crianças com deficiências graves nasceram durante essa epidemia.

É importante, portanto, que mulheres não imunizadas contra rubéola e em período fértil sejam identificadas. Em alguns estados norte-americanos, um teste sorológico para a detecção de imunidade contra a rubéola faz parte dos documentos necessários para a obtenção de uma licença de casamento. Anticorpos séricos podem ser detectados por vários métodos laboratoriais comercialmente disponíveis. O diagnóstico acurado do estado imunológico sempre requer esse tipo de teste, uma vez que somente o histórico com frequência não é confiável.

Além desse monitoramento, uma vacina contra a rubéola foi introduzida em 1969. Estudos de acompanhamento indicam que mais de 90% das pessoas vacinadas ficam protegidas por pelo me-

(a) Tínea.

(b) Pé-de-atleta.

Figura 21.16 Dermatomicoses.

P As tíneas são causadas por um helminto?

nos 15 anos. Em razão dessas medidas preventivas, menos de 10 casos anuais de síndrome da rubéola congênita são relatados.

A vacina não é recomendada para mulheres grávidas. Entretanto, em centenas de casos em que mulheres foram vacinadas três meses antes ou três meses depois da data prevista para a concepção, nenhum caso de síndrome da rubéola congênita ocorreu. Pessoas que apresentam defeitos imunológicos não devem receber vacinas vivas contra qualquer doença.

Outras erupções virais

Eritema infeccioso (quinta doença). Os pais de crianças pequenas com frequência são confundidos por um diagnóstico de "quinta doença", sobre a qual a maioria jamais ouviu falar. O nome deriva de uma lista de doenças que envolvem erupções na pele, datada de 1905, e que incluía sarampo, febre escarlate, rubéola, doença de Filatov Duke (uma forma branda de febre escarlate) e a quinta doença da lista. A **quinta doença**, ou **eritema infeccioso**, não gera nenhum sintoma em cerca de 20% das pessoas infectadas pelo vírus (parvovírus humano B19, identificado pela primeira vez em 1989). Os sintomas são similares a um caso leve de gripe, mas com a ocorrência distinta de uma erupção facial semelhante à marca deixada por um tapa no rosto, a qual desaparece lentamente. Em adultos não imunizados naturalmente durante a infância, a doença pode causar anemia, artrites ou, mais raramente, abortos.

Roséola infantil. A **roséola** é uma doença branda e muito comum que ocorre na infância. A criança doente apresenta febre alta por alguns dias, seguida do surgimento de uma erupção que cobre a maior parte do corpo e com duração de um ou dois dias. A recuperação leva à imunidade definitiva. Os patógenos causadores são os vírus Herpesvírus humano 6 e 7 (HHV-6 e HHV-7, de *human herpesvirus*), sendo que o HHV-7 é responsável por 5 a 10% dos casos. Ambos os vírus podem estar presentes na saliva da maioria dos adultos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como a estranha definição "quinta doença" surgiu? **21-5**

Doenças fúngicas da pele e das unhas

A pele é muito suscetível a micro-organismos que podem resistir a altas pressões osmóticas e baixa umidade. Assim, não surpreende que os fungos causem várias doenças cutâneas. Qualquer infecção fúngica no corpo é chamada de **micose**.

Micoses cutâneas

Os fungos que colonizam os pelos, as unhas e a camada mais externa (estrato córneo) da epiderme (veja a Figura 21.1) são chamados de **dermatófitos**; eles crescem a partir da queratina presente nesses locais. Tecnicamente denominadas **dermatomicoses**, essas infecções fúngicas são mais comumente chamadas de *tíneas*. A **tínea da cabeça**, que atinge o couro cabeludo, é bastante comum entre crianças do ensino fundamental, e a infecção pode resultar em placas sem cabelo. Essa característica levou os romanos a adotarem o nome *tinea*, que em latim significa traça de roupa, pois a infecção se assemelha aos buracos deixados pelas larvas da traça em roupas de lã. A infecção tende a se expandir em círculos (**Figura 21.16a**), por isso o termo *ringworm*, que significa "verme circular". A infecção normalmente é transmitida por contato com fômites. Gatos e cães também são frequentemente infectados pelos fungos que causam as tíneas em crianças. A tínea da virilha é conhecida como **tínea crural**, e a doença nos pés é chamada de **tínea do pé** (**Figura 21.6b**). A umidade dessas áreas favorece as infecções fúngicas.

Três gêneros de fungos estão envolvidos nas micoses cutâneas. *Trichophyton* pode infectar pelos, pele ou unhas; *Microsporum* normalmente infecta apenas pelos ou pele; *Epidermophyton* afeta apenas a pele e as unhas. As drogas tópicas disponíveis para o tratamento das tíneas, sem a necessidade de prescrição médica, incluem o miconazol e o clotrimazol. O pé-de-atleta normalmente é difícil de curar. Preparações tópicas a partir de alilamina, contendo terbinafina ou naftifina, assim como outra alilamina, a butenavina, são recomendadas e estão disponíveis sem a necessidade de prescrição. Normalmente a aplicação por períodos prolongados é necessária. Quando o cabelo está envol-

(a) *Candida albicans.*

(b) Candidíase oral, ou *thrush.*

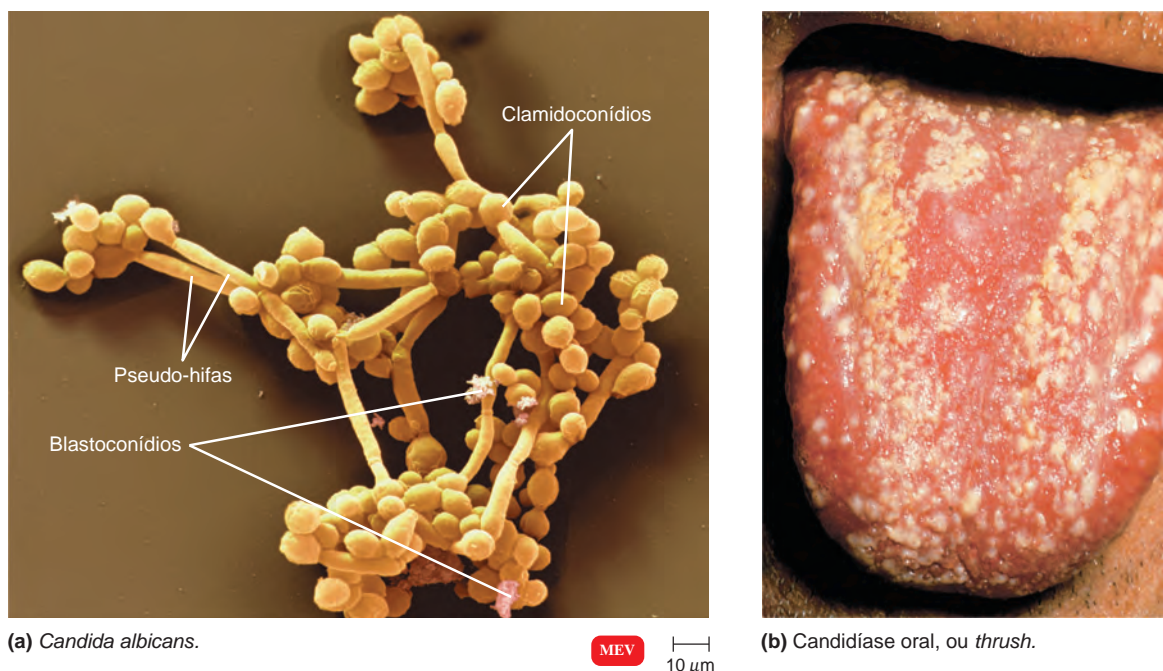



Figura 21.17 **Candidíase. (a)** *Candida albicans*. Note os clamidoconídios esféricos (corpos de resistência formados a partir de hifas vegetativas) e os blastoconídios menores (esporos assexuados produzidos por brotamento) (veja o Capítulo 12). **(b)** Este caso de candidíase, ou *thrush*, produz uma camada grossa e cremosa sobre a língua.

P **Como as drogas antibacterianas podem levar à candidíase?**

vido na infecção, o tratamento tópico não é muito eficiente. Um antibiótico oral, a griseofulvina, frequentemente é útil no tratamento dessas infecções, pois ele pode se localizar em tecido queratinizado, como descrito na página 569. Quando as unhas são infectadas, o que é chamado de **tínea ungueal** ou *onicomicose*, as drogas orais itraconazol e terbinafina normalmente são escolhidas para o tratamento, que pode durar semanas, e ambas as drogas precisam ser utilizadas com cuidado devido aos efeitos colaterais graves.

As micoses cutâneas normalmente são diagnosticadas pelo exame direto de raspados da área afetada, tratados com hidróxido de potássio (KOH) e analisados sob microscopia óptica. O pó de KOH dissolve os tecidos epiteliais, permitindo uma visão mais clara das hifas dos fungos.

Micoses subcutâneas

As micoses subcutâneas são mais sérias que as micoses cutâneas. Mesmo quando a pele é rompida, os fungos cutâneos não parecem ser capazes de penetrar através do estrato córneo, talvez porque não consigam obter quantidades suficientes de ferro para o crescimento na epiderme ou na derme. Micoses subcutâneas normalmente são causadas por fungos que habitam o solo, em especial quando rico em vegetação em decomposição, e podem penetrar a pele por pequenas aberturas, como ferimentos, que permitem sua entrada no tecido subcutâneo.

Nos Estados Unidos, a doença mais comum desse tipo é a **esporotricose**, causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii*. A maioria dos casos ocorre entre jardineiros ou outras pessoas que trabalham com terra.* O fungo frequentemente invade o sistema linfático na área da infecção e ali forma lesões similares. A condição pode ser fatal e é tratada pela ingestão de uma solução diluída de iodeto de potássio, embora o micro-organismo não seja afetado *in vitro* mesmo por soluções de iodeto de potássio na concentração de 10%.

Candidíase

P&R A microbiota bacteriana das membranas mucosas no trato geniturinário e na boca geralmente ajuda a suprimir o crescimento de fungos como a *Candida albicans*. Várias outras espécies de cândida, como a *C. tropicalis* e a *C. krusei*, também podem estar envolvidas. A morfologia desses micro-organismos não é sempre leveduriforme, podendo apresentar formações de pseudo-hifas, que são células alongadas semelhantes a hifas. Nessa forma, a *Candida* é resistente à fagocitose, o que pode ser um fator importante na sua patogenicidade (**Figura 21.17a**). Devido ao fato de que o fungo não é afetado por drogas antibacterianas, algumas vezes ele é capaz de crescer sobre o tecido mucoso quando os antibióticos suprimem a microbiota bacteriana normal. Mudanças no pH normal das mucosas também podem gerar um efeito similar. Quando ocorre o crescimento exagerado da *C. albicans*, a infecção é chamada de **candidíase**. Recém-nascidos, cuja microbiota normal ainda não se estabeleceu, frequentemente apresentam uma camada esbranquiçada na

* N. de T. No Brasil, a esporotricose também ocorre e está relacionada a pessoas que lidam com o solo. No entanto, um número epidemiologicamente importante de casos no país tem sido atribuído a arranhaduras de gatos contendo esporos do fungo nas garras. A doença é, portanto, considerada por alguns como uma zoonose.

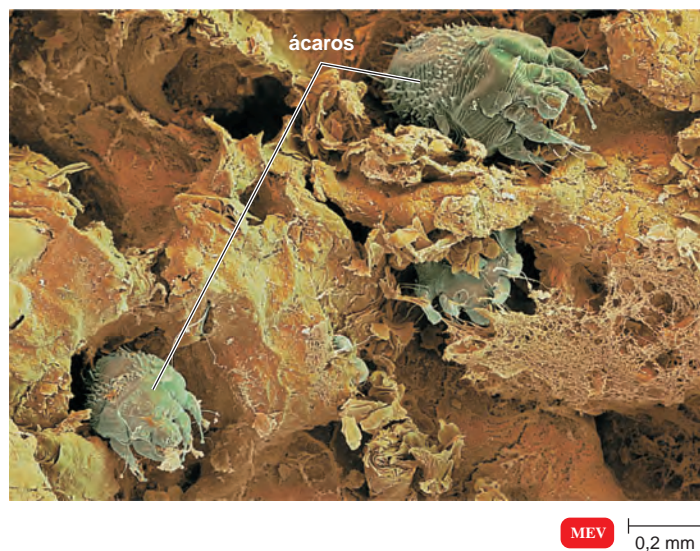



Figura 21.18 **Ácaros da sarna na pele.**

P **Seria realmente necessário um microscópio para identificar este patógeno?**

cavidade oral, denominada **candidíase oral** (**Figura 21.17b**) ou *thrush*.* A *C. albicans* é uma causa muito comum de vaginites (veja o Capítulo 26).

Pessoas imunossuprimidas, incluindo pacientes com Aids, são propensas às infecções por *Candida* na pele e nas membranas mucosas. Em pessoas obesas ou com diabetes, as áreas da pele naturalmente mais úmidas tendem a se tornar infectadas por esse fungo. As áreas infectadas se tornam de cor vermelho vivo, com lesões nas bordas. As infecções de pele e membranas mucosas causadas pela *C. albicans* normalmente são tratadas com aplicações tópicas de miconazol, clotrimazol ou nistatina.

Se a candidíase se tornar sistêmica, o que pode acontecer no caso de pacientes imunossuprimidos, uma *doença fulminante* (que surge súbita e intensamente) e morte podem resultar. A droga de escolha para o tratamento de candidíase sistêmica é o fluconazol. Diversos novos tratamentos estão disponíveis atualmente; por exemplo, algumas drogas antifúngicas da nova classe das equinocandinas, como a micafungina e a anidulafungina, já estão aprovadas para uso.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Em que a esporotricose e o pé-de-atleta diferem? De que forma são similares? **21-6**

✔ Como o uso da penicilina pode resultar em um caso de candidíase? **21-7**

Infestações parasitárias da pele

Organismos parasitários como alguns protozoários, helmintos e artrópodes microscópicos podem infestar a pele e causar doenças. Descreveremos dois exemplos de infestações comuns na pele: a sarna e o piolho.

Sarna

Provavelmente a primeira conexão documentada entre um organismo microscópico (330-450 μm) e uma doença humana tenha sido a **sarna**, descrita por um médico italiano em 1687. A doença envolve uma intensa coceira local e é causada pelo minúsculo ácaro *Sarcoptes scabiei*, que escava túneis sob a pele e deposita seus ovos (**Figura 21.18**). Esses túneis feitos pelo parasita na pele frequentemente são visíveis como linhas tortuosas e ligeiramente elevadas de cerca de 1 mm de largura. Entretanto, a sarna pode surgir na forma de várias lesões inflamatórias na pele, muitas delas causadas por infecções secundárias, originadas do ato de se coçar. A sarna é transmitida por contato íntimo, inclusive sexual, sendo encontrada com mais frequências em membros de uma mesma família, residentes de casas de repouso e adolescentes que trabalham como babás, infectados pelas crianças das quais tomam conta.

Cerca de 500.000 pessoas com sarna procuram tratamento cada ano nos Estados Unidos. Em países em desenvolvimento, a infestação é ainda mais prevalente. O ácaro vive por cerca de 25 dias, mas durante esse período, os ovos depositados eclodem e geram uma dúzia ou mais de novos ácaros. A sarna normalmente é diagnosticada pela análise microscópica de raspados de pele, sendo então tratada pela aplicação tópica de permetrina. Casos difíceis às vezes são tratados com ivermectina oral.

Pediculose (piolho)

Infestações por piolhos, chamadas de **pediculose**, têm afligido os seres humanos por milhares de anos. Embora popularmente associados a inadequadas condições sanitárias, os surtos de piolhos entre crianças em idade escolar pertencentes às classes média e rica são comuns nos Estados Unidos. Os pais normalmente ficam arrasados, no entanto o piolho é facilmente transferido de cabeça para cabeça, como ocorre no contato de crianças que se conhecem bem. O piolho da cabeça, *Pediculus humanus capitis*, não é o mesmo que o piolho do corpo, *Pediculus humanus corporis*. Ambos são subespécies de *Pediculus humanus* que se adaptaram a diferentes áreas do corpo. Apenas o piolho do corpo dissemina doenças, como a febre tifoide.

Os piolhos (veja a Figura 12.32a, página 363) precisam se alimentar do sangue de seu hospedeiro, e o fazem diversas vezes durante o dia. A vítima normalmente não sabe da presença desse passageiro indesejável até que ocorre a coceira, resultado da sensibilização à saliva do piolho e que se desenvolve várias semanas depois da infestação inicial. O ato de se coçar pode resultar em infecções bacterianas secundárias. O piolho da cabeça possui pernas especialmente adaptadas para se agarrar aos cabelos no couro cabeludo (**Figura 21.19a**). Durante seu período de vida, que pode durar até um pouco mais de um mês, a fêmea do piolho deposita muitos ovos (lêndeas) por dia. Os ovos ficam anexados à haste dos fios de cabelo, próximo ao couro cabeludo (**Figura 21.19b**), para que possam usufruir de uma temperatura de incubação mais quente, eclodindo dentro de uma semana. Nos estágios iniciais do desenvolvimento dos piolhos, eles também são chamados de lêndeas. As cascas vazias dos ovos são brancas e mais visíveis. Elas não indicam necessariamente a presença de piolhos vivos. À medida que o cabelo cresce (a uma taxa de 1 cm por mês), as lêndeas anexadas se movem para longe do couro cabeludo.

Um ponto interessante é o fato de que a incidência de piolhos entre pessoas da raça negra nos Estados Unidos é baixa. Isso acon-

* N. de T. A palavra em inglês *thrush* frequentemente é usada sem tradução pela literatura médico-científica no Brasil.

tece porque nesse país os piolhos se adaptaram às hastes cilíndricas do cabelo de pessoas brancas. Na África, os piolhos se adaptaram às hastes não cilíndricas do cabelo de pessoas negras.

Os tratamentos para o piolho da cabeça são muitos, mas existe um ditado na área médica que diz que, quando existem muitos tratamentos para uma determinada condição, é provável que nenhum seja realmente bom. Medicamentos sem prescrição médica como o Nix (inseticida baseado em permetrina) e o Rid (inseticida baseado em piretrina) em geral são a primeira escolha, mas a resistência tem se tornado comum. Outras preparações contendo o inseticida malation (Ovide) ou o lindane, este último mais tóxico, também estão disponíveis (o uso do lindane foi proibido no estado norte-americano da Califórnia).

Um tratamento de dose única, consistindo na administração oral de ivermectina, algumas vezes é utilizado. Um novo produto baseado em silicone, denominado LiceMD, é efetivo e atóxico. O seu princípio ativo, *dimeticona*, bloqueia os tubos de respiração do piolho. A remoção física das lêndeas pelo uso de pentes finos é outra opção de tratamento. Esse é um procedimento difícil e demorado, que acabou por resultar no aparecimento de serviços profissionais para remoção de piolhos em algumas cidades. Os serviços são caros, mas considerados válidos pelas mães ocupadas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que doenças, caso existam, podem ser disseminadas pelo piolho da cabeça? **21-8**

Figura 21.19 Piolho e ovos de piolho (lêndeas). (a) Piolho adulto se agarrando a um fio de cabelo. **(b)** Este ovo (lêndea) contém o estágio de ninfa do piolho, a qual está em processo de sair do ovo através da tampa (opérculo). Ela consegue sair engolindo ar e forçando sua saída através do ânus, fazendo com que o opérculo abra de forma semelhante a uma rolha de champanhe.

P Como a pediculose é transmitida?

Doenças microbianas dos olhos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

21-9 Definir *conjuntivite.*

21-10 Listar os agentes causadores, o modo de transmissão e os sintomas clínicos das seguintes infecções oculares: oftalmia neonatal, conjuntivite de inclusão, tracoma.

21-11 Listar os agentes causadores, o modo de transmissão e os sintomas clínicos das seguintes infecções oculares: ceratite herpética e ceratite por *Acanthamoeba.*

As células epiteliais que cobrem os olhos podem ser consideradas como uma continuação da mucosa ou da pele. Muitos micróbios podem infectar os olhos, principalmente através da *conjuntiva*, a membrana mucosa que recobre a parte interna das pálpebras e a região branca dos globos oculares. Ela é uma camada transparente de células vivas que substituem a pele. As doenças oculares estão resumidas em Doenças em Foco 21.4.

Inflamação das membranas dos olhos: conjuntivite

A **conjuntivite** é uma inflamação da conjuntiva, frequentemente chamada por seu nome comum, **olhos vermelhos**. O *Haemophilus influenzae* é o agente bacteriano mais comum, enquanto infecções virais normalmente são causadas por adenovírus. No entanto, um amplo grupo de agentes bacterianos e virais, e também alergias, pode causar essa condição.

A popularidade das lentes de contato tem sido acompanhada pelo aumento da incidência de infecções oculares. Isso é especialmente verdadeiro no caso das lentes flexíveis, que com frequência são usadas por longos períodos. Entre os patógenos bacterianos que causam conjuntivites estão as *Pseudomonas*, que podem danificar seriamente os olhos. Para prevenir infecções, os usuários de lentes de contato não devem utilizar soluções salinas feitas em casa, uma fonte frequente de infecção, e devem seguir meticulosamente as recomendações do fabricante para a limpeza e a desinfecção das lentes. Os métodos mais eficientes para a desinfecção de lentes de contato envolvem a aplicação de calor. No caso de lentes que não podem ser aquecidas, elas podem ser desinfetadas com o uso de peróxido de hidrogênio, que é em seguida neutralizado.

Doenças bacterianas dos olhos

Os micro-organismos bacterianos mais comumente associados aos olhos são aqueles da pele e do trato respiratório superior.

Oftalmia neonatal

A **oftalmia neonatal** é uma forma séria de conjuntivite causada por *Neisseria gonorrhoeae* (agente causador da gonorreia). Grandes quantidades de pus são formadas; se o tratamento não for iniciado a tempo, pode ocorrer a ulceração da córnea. A doença é adquirida quando o feto passa pelo canal do parto, e a infecção apresenta um risco elevado de produzir cegueira. No início do sé-

DOENÇAS EM FOCO 21.4

Doenças microbianas dos olhos

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Por exemplo, um homem de 20 anos apresentava vermelhidão ocular com a formação de crostas de muco seco pelas manhãs. A condição foi resolvida com o uso de antibióticos tópicos. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Sintomas	Método de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS					
Conjuntivite	*Haemophilus influenzae*	Conjuntiva	Vermelhidão	Contato direto; fômites	Nenhum
Oftalmia neonatal	*Neisseria gonorrhoeae*	Conjuntiva	Infecção aguda com muita formação de pus.	Através do canal do parto	Prevenção: tetraciclina, eritromicina ou iodo-povidona
Conjuntivite de inclusão	*Chlamydia trachomatis*	Conjuntiva	Inchaço das pálpebras; formação de muco e pus.	Através do canal do parto; em piscinas	Tetraciclina
Tracoma	*Chlamydia trachomatis*	Conjuntiva	Conjuntivite	Contato direto; fômites; moscas	Nenhum
DOENÇAS VIRAIS					
Conjuntivite	Adenovírus	Conjuntiva	Vermelhidão	Contato direto	
Ceratite herpética	Vírus do herpes simples tipo 1	Conjuntiva; córnea	Ceratite	Contato direto; infecção latente recorrente	Trifluridina pode ser efetiva
DOENÇAS PROTOZOÓTICAS					
Ceratite por *Acanthamoeba*	*Acanthamoeba* spp.	Abrasão córnea; lentes de contato flexíveis podem impedir a remoção da ameba pelo ato de piscar.	Ceratite	Contato com água de rios e lagos (água doce)	Uso tópico de isotionato de propamidina ou miconazol; transplante de córnea ou remoção cirúrgica do olho afetado pode ser necessário.

culo XX, a legislação exigia que os olhos dos recém-nascidos fossem tratados com uma solução de nitrato de prata a 1%, o que se mostrou muito efetivo na prevenção e no tratamento desse tipo de infecção. Entre 1906 e 1959, o percentual de pessoas admitidas em escolas para cegos, e que podiam ter sua condição atribuída à oftalmia neonatal, diminuiu de 24% para 0,3%. O nitrato de prata foi quase completamente substituído por antibióticos devido às co-infecções frequentes por gonococos e clamídias sexualmente transmissíveis, agentes contra os quais o nitrato de prata não é efetivo. Em regiões do mundo onde o custo dos antibióticos é proibitivo, o uso de soluções diluídas de iodo-povidona tem se mostrado eficiente.

Conjuntivite de inclusão

A conjuntivite clamidial, ou **conjuntivite de inclusão**, é bastante comum nos dias de hoje. Ela é causada pela *Chlamydia trachomatis,* uma bactéria que cresce somente como um parasita intracelular obrigatório. Em bebês, que adquirem a infecção no canal do parto durante o nascimento, a condição tende a se resolver espontaneamente em algumas semanas ou meses, mas em casos raros pode ocorrer lesão da córnea. A conjuntivite clamidial também parece se disseminar através da água de piscinas não tratada com cloro; nesse contexto, ela é chamada de *conjuntivite da piscina*. A tetraciclina aplicada como pomada oftálmica é um tratamento bastante eficiente.

Tracoma

O **tracoma** é uma infecção ocular grave e, provavelmente, a maior causa isolada de cegueira por uma doença infecciosa. O nome deriva de uma palavra grega antiga que significa "enrugado". A doença é causada por certos sorotipos de *Chlamydia trachomatis,* mas não os mesmos que causam infecções genitais (veja as páginas 750, 752 e 755). Nas regiões áridas da África e da Ásia, quase todas as crianças são infectadas cedo em suas vidas. Em todo o mundo, estima-se

que existam 500 milhões de casos ativos e 7 milhões de vítimas de cegueira decorrente da doença. O tracoma também ocorre ocasionalmente no sudoeste dos Estados Unidos, em especial entre índios norte-americanos.

A doença é uma conjuntivite transmitida principalmente por contato manual ou compartilhamento de objetos de uso pessoal, como toalhas. Moscas também podem carrear a bactéria. Infecções repetidas causam inflamação (**Figura 21.20a**), o que, por sua vez, leva à *triquíase*, condição em que os cílios se curvam para baixo e para dentro dos olhos (**Figura 21.20b**). A abrasão da córnea, especialmente causada pelos cílios, pode então causar lesão da córnea e cegueira. A triquíase pode ser corrigida cirurgicamente, um procedimento mostrado em antigos papiros egípcios. Infecções secundárias por outras bactérias patogênicas também são consideradas um fator importante nessa doença. Antibióticos para eliminar as clamídias, em especial a azitromicina, são tratamentos úteis. A doença pode ser controlada por práticas de higiene e educação em saúde.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Qual é o nome comum da conjuntivite de inclusão? **21-9**
- ✓ Por que o uso de antibióticos substituiu quase totalmente o uso do nitrato de prata, mais barato, na prevenção da oftalmia neonatal? **21-10**

Outras doenças infecciosas dos olhos

Micro-organismos como os vírus e os protozoários também podem causar doenças oculares. As doenças discutidas aqui são caracterizadas pela inflamação da córnea, uma condição chamada de *ceratite*. Nos Estados Unidos, a maior parte das ceratites tem origem bacteriana; na África e na Ásia, a maioria das infecções oculares é causada por fungos, como *Fusarium* e *Aspergillus*.

Ceratite herpética

A **ceratite herpética** é causada pelo mesmo vírus herpes simples do tipo 1 que causa o herpes labial, e se torna latente nos nervos do gânglio trigêmeo (veja a **Figura 21.13**). A doença é uma infecção da córnea, com frequência resultando na formação de úlceras profundas, o que pode ser a causa mais comum de cegueira nos Estados Unidos. A droga trifluridina é um tratamento eficaz em muitos casos.

Ceratite por *Acanthamoeba*

O primeiro caso de **ceratite por *Acanthamoeba*** foi documentado em 1973, em um fazendeiro texano. Desde então, mais de 4.000 casos da doença foram diagnosticados nos Estados Unidos. A ameba tem sido encontrada na água doce de rios e lagos, em água de torneira, em banheiras e também no solo. A maioria dos casos recentes foi associada ao uso de lentes de contato, embora qualquer dano da córnea por trauma ou infecções possa tornar o paciente suscetível à doença. Os fatores que contribuem para a infecção incluem o uso de procedimentos de desinfecção inadequados (uma vez que apenas o calor pode matar, com certeza, os cistos da ameba), o uso de soluções salinas feitas em casa e o uso de lentes de contato durante o sono ou a prática de natação.

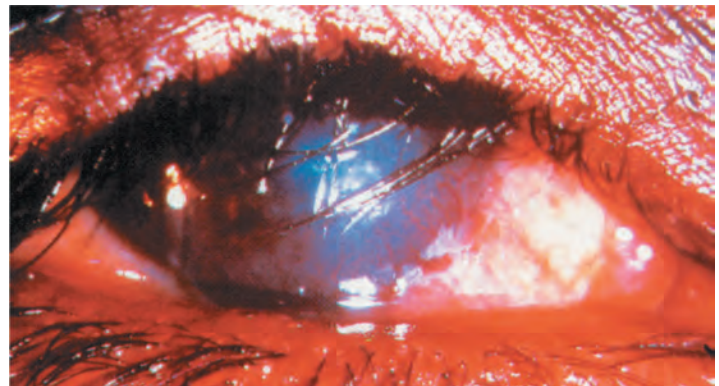
(a) Inflamação crônica da pálpebra.

(b) Triquíase, cílios voltados para dentro dos olhos causando abrasão da córnea.

Figura 21.20 Tracoma. (a) Infecções repetidas por *Chlamydia trachomastis* causam inflamações crônicas. A pálpebra foi retraída para mostrar os nódulos inflamatórios que entram em contato com a córnea. **(b)** Em estágios tardios do tracoma, os cílios se voltam para dentro dos olhos (triquíase), como mostrado aqui, o que causa mais abrasão da córnea.

P Como o tracoma é transmitido?

Em seu estágio inicial, a infecção consiste apenas de uma inflamação leve, porém os estágios posteriores frequentemente são acompanhados de dor intensa. Se iniciado precocemente, o tratamento com colírios contendo isotianato de propamidina e o uso de neomicina tópica têm se mostrado eficientes. O dano muitas vezes é tão grave que pode requerer o transplante de córnea ou mesmo a remoção cirúrgica do olho afetado. O diagnóstico é confirmado pela presença de trofozoítos e cistos em raspados corados da córnea.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Das duas infecções, a ceratite herpética e a ceratite por *Acanthamoeba*, qual delas é mais provável de ser causada por um organismo que se reproduz ativamente em soluções salinas para limpeza de lentes de contato? **21-11**

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 584)

1. A pele é uma barreira física contra os micro-organismos.
2. As áreas úmidas da pele (como as axilas) suportam o crescimento de populações bacterianas maiores que as áreas secas (como o couro cabeludo).
3. A pele humana produz antibióticos chamados de defensinas.

Estrutura e função da pele (p. 585)

1. A porção externa da pele (epiderme) contém queratina, uma cobertura à prova d'água.
2. A porção interna da pele, a derme, contém folículos pilosos, ductos sudoríparos e glândulas sebáceas que fornecem portas de entrada para os micro-organismos.
3. O sebo e a transpiração são secreções da pele que podem inibir o crescimento de micro-organismos.
4. O sebo e a transpiração fornecem nutrientes para alguns micro-organismos.
5. As cavidades corporais são revestidas por células epiteliais. Quando essas células secretam muco, constituem as membranas mucosas.

Microbiota normal da pele (p. 585, 586)

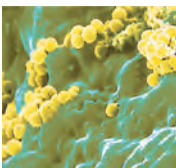
1. Os micro-organismos que vivem na pele são resistentes ao ressecamento e a altas concentrações de sal.
2. Cocos gram-positivos predominam na pele.
3. A microbiota normal da pele não pode ser removida pela lavagem.
4. Membros do gênero *Propionibacterium* metabolizam o óleo das glândulas sebáceas e colonizam os folículos pilosos.
5. A levedura *Malassezia furfur* cresce nas secreções de óleo e pode ser a causa da caspa.

Doenças microbianas da pele (p. 586-603)

1. Vesículas são pequenas lesões cheias de líquido; bolhas são vesículas maiores que 1 cm; máculas são lesões planas e avermelhadas; pápulas são lesões elevadas; pústulas são lesões elevadas que contêm pus.

Doenças bacterianas da pele (p. 586-594)

Infecções de pele por estafilococos (p. 586-589)

2. Estafilococos são bactérias gram-positivas que frequentemente crescem em agrupamentos.
3. A maior parte da microbiota da pele é composta por *Staphylococcus epidermidis* coagulase-negativos.
4. Quase todas as cepas patogênicas de *S. aureus* produzem coagulase.
5. *S. aureus* patogênicos podem produzir enterotoxinas, leucocidinas e toxina esfoliativa.
6. Infecções localizadas (como espinhas e carbúnculos) resultam da entrada do *S. aureus* em aberturas na pele.
7. O impetigo é uma infecção superficial da pele altamente contagiosa causada pelo *S. aureus*.
8. A toxemia ocorre quando toxinas entram na corrente sanguínea; as toxemias estafilocócicas incluem a síndrome da pele escaldada e a síndrome do choque tóxico.

Infecções de pele por estreptococos (p. 589-591)

9. Os estreptococos são cocos gram-positivos que frequentemente crescem em cadeias.
10. Os estreptococos são classificados de acordo com suas enzimas hemolíticas e antígenos da parede celular.
11. Os estreptococos beta-hemolíticos do grupo A (incluindo o *Streptococcus pyogenes*) são os patógenos mais importantes para os seres humanos.
12. Os estreptococos beta-hemolíticos do grupo A produzem vários fatores de virulência: proteína M, toxina eritrogênica, deoxirribonucleases, estreptocinases e hialuronidase.
13. A erisipela é causada pelo *S. pyogenes*.
14. Os estreptococos beta-hemolíticos do grupo A invasivos causam destruição rápida e severa de tecidos.

Infecções por *Pseudomonas* (p. 591-594)

15. As pseudomonas são bacilos gram-negativos. Elas são micro-organismos aeróbicos encontrados principalmente no solo e a água, sendo resistentes a muitos desinfetantes e antibióticos.
16. *Pseudomonas aeruginosa* produz uma endotoxina e várias exotoxinas.
17. Doenças causadas por *P. aeruginosa* incluem otites externas, infecções respiratórias, infecções de queimaduras e dermatites.
18. As infecções apresentam um pus azul-esverdeado característico, causado pelo pigmento piocianina.
19. As quinolonas são úteis no tratamento de infecções por *P. aeruginosa*.

Úlcera de Buruli (p. 594)

20. O *Mycobacterium ulcerans* causa ulcerações profundas nos tecidos.

Acne (p. 594)

21. O *Propionibacterium acnes* pode metabolizar o sebo preso nos folículos pilosos.
22. Os produtos finais do metabolismo (ácidos graxos) causam a acne inflamatória.
23. A tretinoína, o peróxido de benzoíla, a eritromicina e a terapia luminosa são usados no tratamento da acne.

Doenças virais da pele (p. 595-600)

Verrugas (p. 595)

24. Os papilomavírus fazem com que as células epiteliais proliferem e produzam um crescimento benigno denominado verruga ou papiloma.
25. As verrugas são disseminadas por contato direto.
26. As verrugas podem regredir espontaneamente ou ser removidas química ou fisicamente.

Varíola (*Smallpox*) (p. 595, 596)

27. O vírus da varíola causa dois tipos de infecções cutâneas: varíola maior e a varíola menor.
28. A varíola é transmitida por via respiratória, e o vírus é transportado para a pele através da corrente sanguínea.
29. Os únicos hospedeiros da varíola são os seres humanos.
30. A varíola foi erradicada por um esforço de vacinação coordenado pela Organização Mundial da Saúde.

Varicela (catapora) e herpes zoster (p. 596, 597)

31. O vírus varicela zoster é transmitido por via respiratória e se localiza na células da pele, causando uma erupção vesicular.
32. Complicações da varicela incluem encefalites e síndrome de Reye.
33. Depois do episódio de catapora, o vírus pode permanecer latente nas células nervosas e subsequentemente se reativar, causando o herpes zoster.
34. O herpes zoster é caracterizado por uma erupção vesicular ao longo de nervos sensoriais cutâneos.
35. A infecção pode ser tratada com aciclovir. Uma vacina composta por vírus atenuados está disponível.

Herpes simples (p. 597, 598)

36. Infecções pelo vírus do herpes simples em células mucosas podem resultar em herpes labial e, eventualmente, encefalites.
37. O vírus permanece latente nas células nervosas, e o herpes labial pode se tornar recorrente quando o vírus é ativado.
38. O HSV-1 é transmitido principalmente por via oral e respiratória.
39. A encefalite herpética ocorre quando o herpesvírus infecta o cérebro.
40. O aciclovir tem se mostrado eficiente no tratamento da encefalite herpética.

Sarampo (p. 598, 599)

41. O sarampo, causado pelo *Measles virus*, é transmitido por via respiratória.
42. A vacinação promove imunidade de longa duração contra o sarampo.
43. Depois que o vírus é incubado nas células do trato respiratório superior, lesões maculares surgem na pele e manchas de Koplik surgem na mucosa oral.
44. Complicações do sarampo incluem infecções do ouvido médio, pneumonias, encefalites e infecções bacterianas secundárias.

Rubéola (p. 599, 600)

45. O vírus da rubéola é transmitido por via respiratória.
46. Uma pessoa infectada pode apresentar uma erupção vermelha e febre leve ou permanecer assintomática.
47. A síndrome da rubéola congênita pode afetar o feto quando a mulher contrai a doença durante o primeiro trimestre de gravidez.
48. Danos decorrentes da síndrome da rubéola congênita incluem nascimento de natimortos, surdez, cataratas, defeitos cardíacos e retardo mental.
49. A vacinação com vírus vivos e atenuados promove imunidade de duração indefinida.

Outras erupções virais (p. 600)

50. O parvovírus humano B19 causa o eritema infeccioso, ou quinta doença, e o HHV-6 causa a roséola infantil.

Doenças fúngicas da pele e das unhas (p. 600-602)

Micoses cutâneas (p. 600, 601)

51. Os fungos que colonizam a camada mais externa da epiderme causam as dermatomicoses.
52. *Microsporum, Trichophyton* e *Epidermophyton* causam dermatomicoses denominadas tíneas.
53. Esses fungos crescem em epidermes que contêm queratina, como pelos, pele e unhas.
54. As tíneas e o pé-de-atleta normalmente são tratados com antifúngicos tópicos.
55. O diagnóstico é baseado no exame microscópico de raspados de pele ou culturas fúngicas.

Micoses subcutâneas (p. 601)

56. A esporotricose resulta da infecção por um fungo do solo que penetra na pele através de um ferimento.
57. O fungo cresce e produz nódulos subcutâneos ao longo dos vasos linfáticos.

Candidíase (p. 601, 602)

58. A *Candida albicans* causa infecções das membranas mucosas e é uma causa comum de candidíases orais e vaginites.
59. A *C. albicans* é um patógeno oportunista que pode proliferar quando a microbiota bacteriana é suprimida.
60. Drogas antifúngicas tópicas podem ser usadas para o tratamento das candidíases.

Infestações parasitárias da pele (p. 602, 603)

61. A sarna é causada por um ácaro que escava túneis e deposita ovos na pele.
62. A pediculose é uma infestação por *Pediculus humanus*.

Doenças microbianas dos olhos (p. 603-605)

1. A membrana mucosa que reveste as pálpebras e a parte branca do globo ocular é chamada de conjuntiva.

Inflamação das membranas dos olhos: conjuntivite (p. 603)

2. A conjuntivite pode ser causada por diversas bactérias e pode ser transmitida por lentes de contato impropriamente desinfetadas.

Doenças bacterianas dos olhos (p. 603-605)

3. A microbiota bacteriana do olho normalmente se origina da pele e do trato respiratório superior.
4. A oftalmia neonatal é causada pela transmissão de *Neisseria gonorrhoeae* de uma mãe infectada para o recém-nascido durante sua passagem pelo canal do parto.
5. Todos os recém-nascidos são tratados com antibióticos para prevenir infecções por *Chlamydia* e *Neisseria*.
6. A conjuntivite de inclusão é uma infecção da conjuntiva causada por *Chlamydia trachomatis*. Ela é transmitida aos recém-nascidos durante o parto, estando presente também em piscinas não tratadas com cloro.
7. No tracoma, causado por *C. trachomatis*, tecidos cicatrizantes se formam na córnea.
8. O tracoma é transmitido por mãos, fômites e talvez moscas.

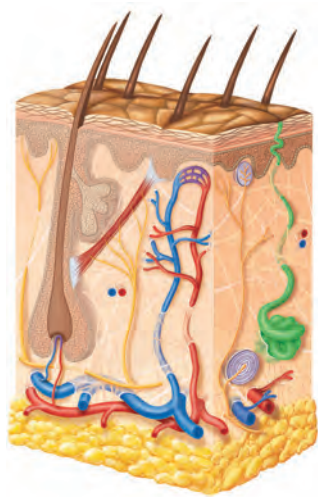
Outras doenças infecciosas dos olhos (p. 605)

9. Os fungos *Fusarium* e *Aspergillus* podem infectar os olhos.
10. As ceratites herpéticas causam úlceras na córnea. A infecção é causada pelo HSV-1, que invade o sistema nervoso central e pode se tornar recorrente.
11. O protozoário *Acanthamoeba*, transmitido através da água, pode causar uma forma série de ceratite.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. Discuta os modos comuns de entrada das bactérias na pele. Compare as infecções cutâneas bacterianas com aquelas causadas por fungos e vírus em relação ao modo de entrada.
2. Que bactérias são identificadas pelo teste positivo da coagulase? Que bactérias são caracterizadas como β-hemolíticas do grupo A?
3. **DESENHE** Na figura abaixo, indique os sítios das seguintes infecções: impetigo, foliculite, acne, verrugas, herpes zoster, esporotricose e pediculose.

4. Complete a tabela epidemiológica abaixo:

Doenças	Agente etiológico	Sintomas clínicos	Modo de transmissão
Acne			
Espinhas			
Verrugas			
Varicela			
Herpes labial			
Sarampo			
Rubéola			

5. Por que alguns estados norte-americanos requerem um teste sorológico de rubéola para mulheres antes de liberar a licença de casamento?
6. Identifique as doenças com base nos sintomas no quadro abaixo?

Sintomas	Doença
Manchas de Koplik	
Erupção macular	
Erupção vesicular	
Erupção formada por pequenas manchas	
Lesões recorrentes na mucosa oral	
Úlcera córnea e inchaço dos linfonodos	

7. Que complicações podem ocorrer em uma infecção por HSV-1?
8. O que faz parte da vacina tríplice viral (MMR)?
9. Um paciente apresenta lesões inflamatórias na pele que coçam intensamente. O exame microscópico de raspados da pele revelou a presença de um artrópode de oito patas. Qual é seu diagnóstico? Como a doença é tratada? O que você concluiria se encontrasse um artrópode de seis patas?

Múltipla escolha

Utilize as informações a seguir para responder as questões 1 e 2. Uma menina de seis anos foi levada ao médico para avaliar a presença de um nódulo de crescimento lento na região da nuca. O nódulo era uma lesão descamativa elevada de 4 cm de diâmetro. Uma cultura fúngica do material da lesão foi positiva para um fungo com numerosos conídios.

1. A doença da menina era:
   a. Rubéola.
   b. Candidíase.
   c. Dermatomicose.
   d. Herpes labial.
   e. Nenhuma das alternativas.
2. Além do couro cabeludo, essa doença também pode ocorrer em todas as regiões, exceto:
   a. Nos pés.
   b. Nas unhas.
   c. Na virilha.
   d. No tecido subcutâneo.
   e. Nenhuma das alternativas.

Utilize as informações a seguir para responder as questões 3 e 4. Um garoto de 12 anos apresentou febre, erupções, dores de cabeça, dor de garganta e tosse. Ele também apresentou uma erupção macular no tronco, na face e nos braços. Uma cultura de material da garganta foi negativa para *Streptococcus pyogenes*.

3. O menino provavelmente teve:
   a. Dor de garganta estreptocócica.
   b. Sarampo.
   c. Rubéola.
   d. Varíola.
   e. Nenhuma das alternativas.
4. Todas as alternativas a seguir são complicações dessa doença, exceto:
   a. Infecções do ouvido médio.
   b. Pneumonia.
   c. Defeitos de nascença.
   d. Encefalite.
   e. Nenhuma das alternativas.
5. Uma paciente apresenta conjuntivite. Se você isolou *Pseudomonas* da maquiagem da paciente, pode concluir todas as alternativas a seguir, exceto:
   a. A maquiagem era a fonte de infecção.
   b. *Pseudomonas* está causando a infecção.
   c. *Pseudomonas* cresceu na maquiagem.
   d. A maquiagem foi contaminada pelo fabricante.
   e. Nenhuma das alternativas.
6. Você examinou microscopicamente raspados oculares de um caso de ceratite por *Acanthamoeba*. O que você espera encontrar?
   a. Nada.
   b. Vírus.
   c. Cocos gram-positivos.
   d. Células eucarióticas.
   e. Cocos gram-negativos.

Utilize as alternativas a seguir para responder as questões 7 a 9.

a. *Pseudomonas.*
b. *S. aureus.*
c. Sarna.
d. *Sporothrix.*
e. Vírus.

7. Nada pode ser observado ao exame microscópico de raspados das erupções do paciente.

8. O exame microscópico das úlceras do paciente mostra células ovoides.

9. O exame microscópico de raspados das erupções do paciente revela bacilos gram-negativos.

10. Em qual das opções a seguir o par está incorreto?

a. Maior causa de cegueiras – *Chlamydia.*
b. Varicela – herpes zoster.
c. HSV-1 – encefalite.
d. Ulcera de Buruli – ácido estomacal.
e. Nenhuma das alternativas.

Pensamento crítico

1. Um teste laboratorial usado para determinar a identidade do *Staphylococcus aureus* é o crescimento em ágar hipertônico manitol. O meio contém 7,5% de cloreto de sódio (NaCl). Por que esse meio é considerado seletivo para o *S. aureus*?

2. É necessário tratar um paciente com verrugas? Explique brevemente.

3. Análises de nove casos de conjuntivite forneceram os dados da tabela abaixo. Como essas infecções foram transmitidas? Como poderiam ser evitadas?

Nº	Etiologia	Isolado de cosméticos para os olhos ou lentes de contato
5	*S. epidermidis*	+
1	*Acanthamoeba*	+
1	*Candida*	+
1	*P. aeruginosa*	+
1	*S. aureus*	+

4. Que fatores possibilitaram a erradicação da varíola? Que outras doenças apresentam esses critérios?

Aplicações clínicas

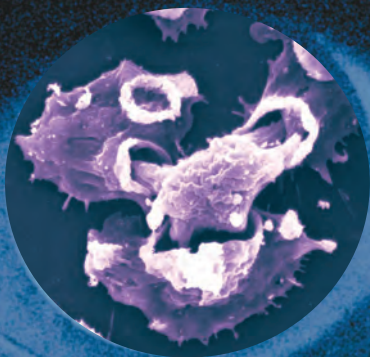
1. Um paciente hospitalizado e que se recuperava de uma cirurgia desenvolveu uma infecção com pus azul-esverdeado e um odor semelhante a uvas. Qual é a etiologia provável? Como o paciente pode ter adquirido a doença?

2. Uma menina diabética de 12 anos e que faz uso contínuo de uma infusão subcutânea de insulina para controlar o diabetes desenvolveu febre (39,4°C), pressão arterial baixa, dor abdominal e eritrodermia. Ela foi orientada a mudar o local de inserção da agulha, limpo com uma solução de iodo, a cada três dias. Entretanto, ela não mudava o local da injeção antes de 10 dias. Culturas do sangue foram negativas, e os abscessos nos locais de inserção não foram cultivados. Qual é a causa provável de seus sintomas?

3. Um adolescente com gripe confirmada foi hospitalizado ao apresentar estresse respiratório. Ele apresentou febre, erupção cutânea e pressão arterial baixa. *S. aureus* foi isolado de suas secreções respiratórias. Discuta a relação entre os sintomas e o agente etiológico.

22 Doenças Microbianas do Sistema Nervoso

Algumas das doenças infecciosas mais devastadoras são aquelas que afetam o sistema nervoso, principalmente o cérebro e a medula óssea. O dano a essas áreas pode levar a surdez, cegueira, deficiência de aprendizagem, paralisia e morte.

Por ser de crucial importância, o sistema nervoso é fortemente protegido de acidentes e infecção por ossos e outras estruturas. Mesmo os patógenos que estejam circulando na corrente sanguínea geralmente não podem entrar no cérebro e na medula espinal por causa da barreira hematoencefálica (veja a Figura 22.2). Algumas vezes, um trauma pode perturbar essas defesas com graves consequências. Acontece que o fluido (fluido cerebrospinal) do sistema nervoso central é em particular vulnerável, pois não apresenta muitas das defesas encontradas no sangue. Os patógenos capazes de causar as doenças do sistema nervoso em geral apresentam características de virulência de uma natureza específica, o que permite sua introdução nessas defesas. Por exemplo, o patógeno pode começar a replicação em um nervo periférico e gradualmente se mover para dentro do cérebro e da medula espinal.

SOB O MICROSCÓPIO

Naegleria fowleri. Essa ameba patogênica pode causar uma doença altamente fatal.

P&R

As amebas na foto estão se alimentando de uma ameba morta. De que tecido elas se alimentam quando infectam os seres humanos?

Procure pela resposta neste capítulo.

Estrutura e função do sistema nervoso

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

22-1 Definir *sistema nervoso central* e *barreira hematoencefálica*.

22-2 Diferenciar meningite e encefalite.

O sistema nervoso humano é organizado em duas divisões: sistema nervoso central e sistema nervoso periférico (**Figura 22.1**). O **sistema nervoso central** (**SNC**) consiste em cérebro e medula espinal. Como centro de controle para o corpo inteiro, o SNC captura as informações sensoriais do ambiente, interpreta-as e envia impulsos que coordenam as atividades corporais. O **sistema nervoso periférico** (**SNP**) consiste em todos os nervos que se ramificam do cérebro e da medula espinal. Esses nervos periféricos são as linhas de comunicação entre o SNC, as várias partes do corpo e o ambiente externo.

Tanto o cérebro quanto a medula espinal são revestidos e protegidos por três camadas de membranas contínuas chamadas de *meninges* (**Figura 22.2**). Elas são a mais externa *dura máter*, a do meio, *aracnoide máter*, e a mais interna, *pia máter*. Entre as membranas pia máter e aracnoide máter há um espaço chamado de *espaço subaracnoide*, no qual um adulto tem de 100 a 160 mL de *fluido cerebrospinal* (CSF, de *cerebrospinal fluid*) circulando. Uma vez que o CSF apresenta níveis baixos do complemento e de anticorpos circulantes e poucas células fagocíticas, as bactérias podem se multiplicar em seu interior com poucas restrições.

No final do século XIX, experimentos em que corantes eram injetados no corpo resultavam na coloração de todos os órgãos – com a importante exceção do cérebro. Contrariamente, quando o CSF era injetado com corantes, apenas o cérebro era corado. Esse resultado extraordinário foi a primeira evidência de uma importante característica da anatomia: a **barreira hematoencefálica**. Certos capilares permitem que algumas substâncias passem do sangue para o cérebro, porém restringem outras. Esses capilares são menos permeáveis do que outros dentro do corpo, sendo, portanto, mais seletivos na passagem de materiais.

As drogas não podem atravessar a barreira hematoencefálica a menos que sejam lipossolúveis. (A glicose e muitos aminoácidos não são lipossolúveis, mas podem atravessar a barreira, pois existem sistemas de transporte especiais para eles.) O antibiótico lipossolúvel cloranfenicol entra no cérebro sem grande esforço. A penicilina é apenas levemente lipossolúvel; porém, se for tomada em doses muito altas, uma quantidade suficiente pode atravessar a barreira. As inflamações do cérebro tendem a alterar a barreira hematoencefálica de modo que permitem a passagem de antibióticos que normalmente não a atravessariam se não houvesse infecção. Provavelmente as vias mais comuns de invasão do SNC sejam a corrente sanguínea e o sistema linfático (veja o Capítulo 23), quando a inflamação altera a permeabilidade da barreira hematoencefálica.

Uma inflamação das meninges é chamada de **meningite**. Uma inflamação do cérebro em si é chamada de **encefalite**. Se o cérebro e as meninges são afetados, a inflamação é chamada de **meningoencefalite**.

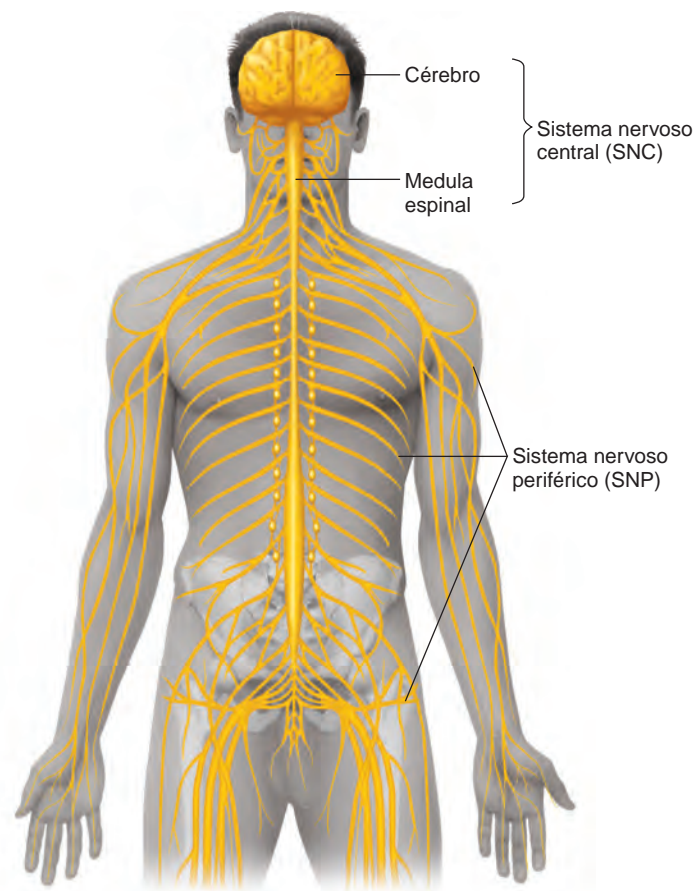



Figura 22.1 **O sistema nervoso humano.** Esta ilustração mostra os sistemas nervosos central e periférico.

P **A meningite é uma infecção do SNC ou do SNP?**

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que o antibiótico cloranfenicol pode atravessar facilmente a barreira hematoencefálica, enquanto grande parte dos outros antibióticos não pode? **22-1**

✓ Em que órgão ou estrutura de órgão a encefalite é uma inflamação? **22-2**

Doenças bacterianas do sistema nervoso

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

22-3 Discutir a epidemiologia da meningite causada por *Haemophilus influenzae*, *Neisseria menigitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Listeria monocytogenes*.

22-4 Explicar como a meningite bacteriana é diagnosticada e tratada.

22-5 Discutir a epidemiologia do tétano, incluindo modo de transmissão, etiologia, sintomas da doença e medidas preventivas.

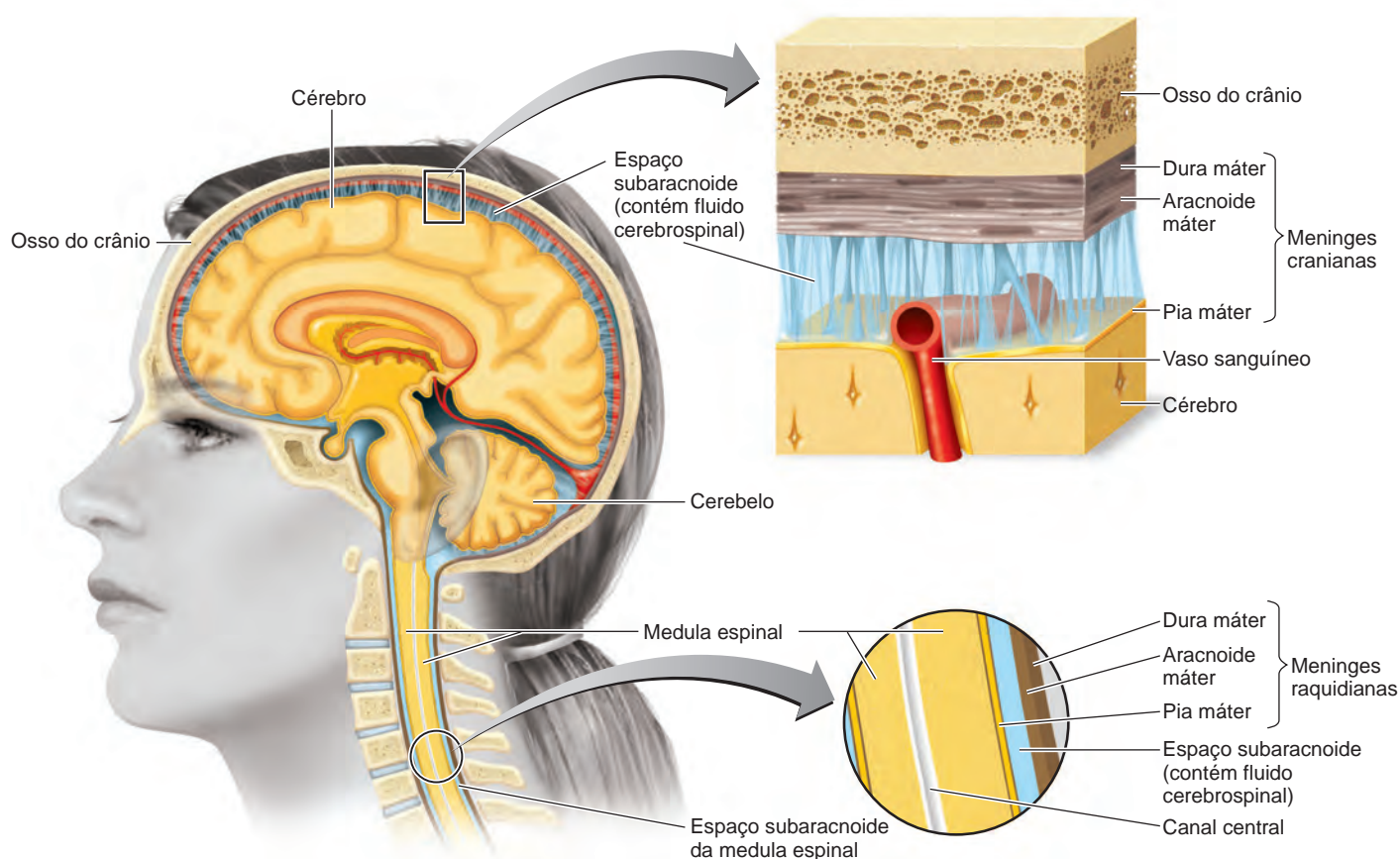



Figura 22.2 **As meninges e o fluido cerebrospinal.** As meninges, sejam elas cranianas ou raquidianas, consistem em três camadas: dura máter, aracnoide máter e pia máter. Entre a aracnoide máter e a pia máter há o espaço subaracnoide, no qual circula o fluido cerebrospinal. Observe que o CSF é vulnerável à contaminação por micróbios carregados no sangue, capazes de penetrar a barreira hematoencefálica nas paredes dos vasos sanguíneos.

P Se um paciente tem meningite, que barreiras precisariam ser cruzadas para resultar em uma encefalite?

22-6 Citar o agente causador, os sintomas, os alimentos suspeitos e o tratamento para o botulismo.

22-7 Discutir a epidemiologia da lepra, incluindo modo de transmissão, etiologia, sintomas da doença e medidas preventivas.

As infecções microbianas do SNC não são frequentes, mas geralmente tem consequências graves. Nas épocas pré-antibióticas, elas quase sempre eram fatais.

Meningite bacteriana

Os sintomas iniciais da meningite não são alarmantes em particular: uma tríade de febre, dor de cabeça e torcicolo. Náusea e vômitos muitas vezes se seguem. Finalmente, a meningite pode progredir para convulsões e coma. A taxa de mortalidade varia de acordo com o patógeno, porém geralmente é alta para uma doença infecciosa nos dias de hoje. Muitas pessoas que sobrevivem a um ataque sofrem algum dano neurológico.

A meningite pode ser causada por diferentes tipos de patógenos, incluindo vírus, bactérias, fungos e protozoários. A meningite viral (que não deve ser confundida com a encefalite viral, página 624) provavelmente seja muito mais comum que a meningite bacteriana, porém tende a ser uma doença branda.

Historicamente, apenas três espécies bacterianas são a causa da maioria dos casos de meningite, assim como sua mortalidade. Em pacientes adultos, isto é, com mais de 16 anos, cerca de 80% dos casos são causados atualmente por *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis*. A meningite causada pelo *Haemophilus influenzae* tipo B, uma vez responsável pela maioria dos casos, foi quase eliminada nos Estados Unidos desde a introdução de uma vacina eficaz. Uma vacina conjugada contra o *S. pneumoniae* está sendo desenvolvida para ampla utilização e deve diminuir a incidência da doença, principalmente entre as crianças. Ela também poderá gerar imunidade coletiva, o que beneficiará a população adulta. Cada um dos três patógenos possui uma cápsula que os protege da fagocitose enquanto

se replicam rapidamente na corrente sanguínea, a partir da qual eles podem penetrar no CSF. A morte por meningite bacteriana muitas vezes ocorre de modo rápido, provavelmente devido ao choque e à inflamação causados pela liberação de endotoxinas dos patógenos gram-negativos ou pela liberação de fragmentos da parede celular (peptideoglicanos e ácido teicoico) das bactérias gram-positivas.

Cerca de 50 outras espécies de bactérias foram registradas como patógenos oportunistas que às vezes causam meningite. Particularmente importantes são a *Listeria monocytogenes*, os estreptococos do grupo B, os estafilococos e certas bactérias gram-negativas.

Meningite por *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae é uma bactéria gram-negativa aeróbica que é um membro comum da microbiota normal da garganta. Ocasionalmente, entretanto, ela entra na corrente sanguínea e causa várias doenças invasivas. Além de causar a meningite, ela muitas vezes também é a causa da pneumonia (página 688), da otite média (página 679) e da epiglotite. A cápsula de carboidrato da bactéria é importante para sua patogenicidade, em particular no caso das bactérias com antígenos capsulares do tipo b. (Cepas que não têm uma cápsula são chamadas de *não tipáveis*.) Do ponto de vista médico, a bactéria muitas vezes é referida pelo acrônimo *Hib*.

O nome *Haemophilus influenzae* foi dado porque se achava erroneamente que o micro-organismo era o agente causador das pandemias de influenza ocorridas em 1889 e na primeira guerra mundial. O *H. influenzae* de provavelmente foi um invasor secundário durante as pandemias causadas por vírus. *Haemophilus* refere-se à necessidade que o micro-organismo tem por fatores no sangue para seu crescimento (*hemo* = sangue; *philus* = afinidade).

A meningite causada por Hib ocorre principalmente em crianças com menos de quatro anos, em especial por volta dos seis meses, quando a proteção por anticorpos fornecida pela mãe se enfraquece. A incidência está diminuindo por causa da vacina Hib, que foi introduzida em 1988. A meningite por *H. influenzae* tem sido responsável pela maioria dos casos registrados de meningite bacteriana (45%), com uma taxa de mortalidade de aproximadamente 6%.

Meningite por *Neisseria meningitidis* (meningite meningocócica)

A **meningite meningocócica** é causada pela *Neisseria meningitidis* (o **meningococo**). Trata-se de uma bactéria gram-negativa aeróbica com uma cápsula de polissacarídeo que é importante para sua virulência. Como o Hib e o pneumococo, ela muitas vezes está presente no nariz e na garganta dos portadores, sem causar os sintomas da doença (**Figura 22.3**). Esses portadores, cerca de 10% da população, são um reservatório da infecção. Os sintomas da meningite meningocócica são causados principalmente por uma endotoxina, produzida de modo muito rápido e capaz de causar a morte dentro de poucas horas. A característica mais marcante é uma erupção cutânea que não desaparece quando pressionada. Um caso de meningite meningocócica típico inicia com uma infecção de garganta, resultando em bacteremia e, por fim, em meningite. Ela geralmente ocorre em crianças com menos de dois anos; a imunidade maternal enfraquece por volta dos seis meses e deixa as crianças suscetíveis. Números significativos dessas crianças apresentam danos residuais, como a surdez.

A morte pode ocorrer poucas horas depois do início da febre; entretanto, a antibioticoterapia tem ajudado a reduzir a taxa de mortalidade para cerca de 9 a 12%. Sem a quimioterapia, as taxas de mortalidade atingem 80%.

Figura 22.3 ***Neisseria meningitidis.*** Esta microscopia eletrônica de varredura mostra a *Neisseria meningitidis* em grupos fixados às células na membrana mucosa na faringe.

P Qual seria o efeito se os cílios fossem inativados por essa infecção?

O meningococo ocorre em cinco sorotipos capsulares. Nos últimos anos nos Estados Unidos, a doença meningocócica tem sido causada por vários desses sorotipos: B (cerca de 35%), C (cerca de 24%), Y (cerca de 34%) e W-135 (cerca de 2%). Na Europa predomina o tipo B, mas o tipo C também ocorre. Nas regiões áridas da África, na China e no Oriente Médio, o tipo A e, ocasionalmente, o C e o W-135 causam epidemia generalizada, que coincide com as estações secas, quando as membranas mucosas nasais são menos resistentes à invasão bacteriana.

Nos Estados Unidos, surtos meningocócicos esporádicos ocorrem entre os estudantes de faculdade, supostamente como resultado da aglomeração de populações suscetíveis nos dormitórios. Ao mesmo tempo, antes que a vacinação fosse introduzida em 1982, esse era o principal problema nos quartéis para os militares dos Estados Unidos. As vacinas são direcionadas para as cápsulas de polissacarídeos dos sorotipos A, C, Y e W-135; elas são recomendadas para muitos estudantes que entram na faculdade e são exigidas por algumas instituições. Nenhuma vacina está disponível contra o sorotipo B, que tem uma cápsula que não é imunogênica nos seres humanos. Entretanto, uma vacina experimental para o sorotipo B está em testes clínicos e poderá estar disponível em breve.

A eficácia das vacinas de polissacarídeos, que não são eficazes para muitas crianças novas, pode ser bastante melhorada pela conjugação com proteínas carreadoras. Essas vacinas conjugadas estão disponíveis agora para os sorotipos A e C em algumas partes do mundo.

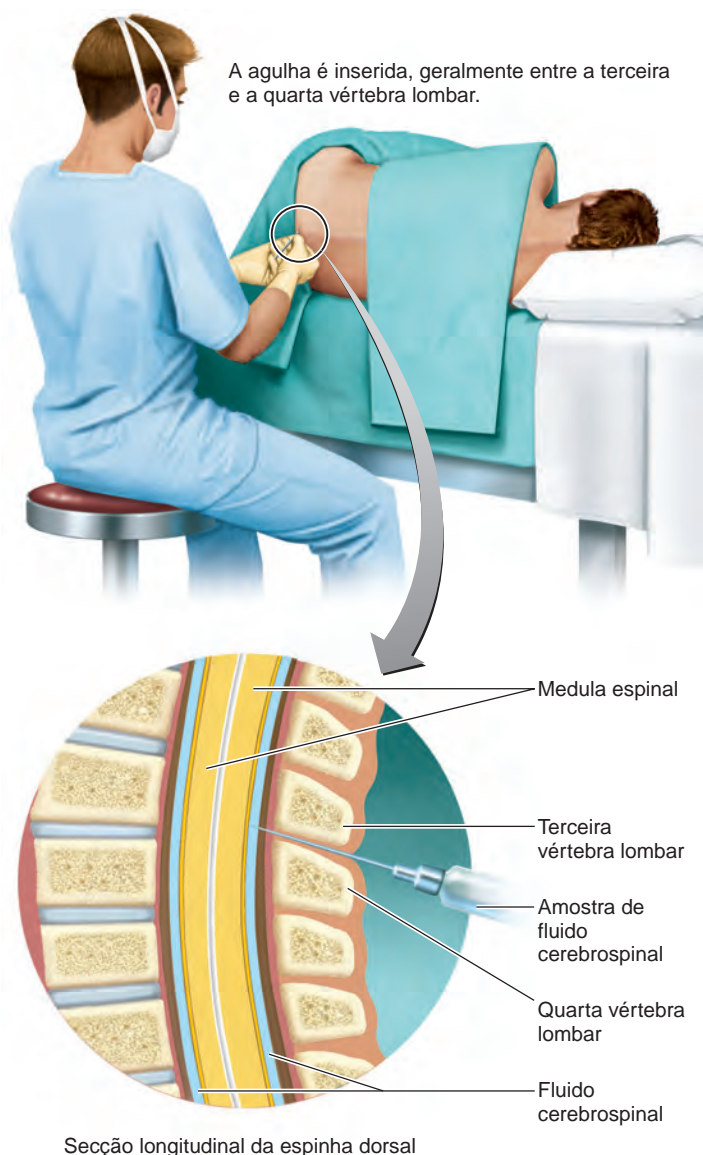



Figura 22.4 **Punção lombar.** Doenças que afetam o SNC, como a meningite, geralmente requerem uma punção lombar para o diagnóstico. Uma agulha é inserida entre as duas vértebras da região inferior da espinha dorsal. Uma amostra do fluido cerebrospinal, que está contido no espaço subaracnoide (veja a Figura 22.2), é retirada para o exame de laboratório.

P **Microscopicamente, o que você veria no CSF de uma pessoa saudável? E de uma pessoa com meningite meningocócica?**

Meningite por *Streptococcus pneumoniae* (meningite pneumocócica)

O *Streptococcus pneumoniae*, como o *H. influenzae*, é um habitante comum da região da nasofaringe. Cerca de 70% da população em geral são portadores sadios. O pneumococo, assim chamado porque é mais conhecido como uma causa de pneumonia (Capítulo 24), é um diplococo gram-positivo encapsulado. Ele é a principal causa da meningite bacteriana, agora que uma vacina Hib eficaz está em uso. Além dos cerca de 3.000 casos de meningite, a cada ano o *S. pneumoniae* causa 500.000 casos de pneumonia e milhões de casos de otite média dolorosa (dor de ouvido). A maioria dos casos de meningite pneumocócica ocorre entre crianças com idades entre um mês e quatro anos. Para uma doença bacteriana, a taxa de mortalidade é muito alta, de cerca de 30% em crianças e 80% em idosos.

Uma vacina conjugada, modelada após a vacina Hib, foi introduzida. Ela é recomendada para lactentes com menos de dois meses (veja a Tabela 18.3, página 504). Um efeito colateral útil dessa vacina é que ela resulta em cerca de 6 a 7% de redução dos casos de otite média. O grande número de sorotipos do pneumococo tornará difícil desenvolver vacinas contra todos eles.

Um sério problema com a meningite e outras doenças causadas pelo pneumococo é o aparecimento crescente de cepas resistentes aos antibióticos.

Diagnóstico e tratamento dos tipos mais comuns de meningite bacteriana

Um diagnóstico de meningite bacteriana requer uma amostra de CSF obtida por punção lombar (**Figura 22.4**). Uma simples coloração de Gram muitas vezes é útil; ela com frequência irá determinar a identidade do patógeno com confiabilidade considerável. Culturas também são feitas a partir do fluido. Para isso, uma manipulação rápida e cuidadosa é exigida, pois muitos dos prováveis patógenos são muito sensíveis e não sobreviverão por muito tempo ao estoque ou até mesmo à alteração de temperatura. Os tipos de testes sorológicos usados com mais frequência conduzidos com o CSF são os testes de aglutinação em látex. Os resultados estão disponíveis em cerca de 20 minutos. Entretanto, um resultado negativo não elimina a possibilidade de patógenos bacterianos menos comuns ou de causas não bacterianas.

A meningite bacteriana oferece risco à vida e se desenvolve rapidamente. Portanto, o tratamento imediato de qualquer tipo de meningite bacteriana é fundamental, e a quimioterapia de casos suspeitos em geral é iniciada antes que a identificação do patógeno seja concluída. As cefalosporinas de amplo espectro de terceira geração costumam ser a primeira opção de antibióticos; alguns especialistas recomendam incluir a vancomicina. Assim que a identificação é confirmada, ou mesmo quando a sensibilidade ao antibiótico é determinada pelas culturas, o tratamento com antibiótico pode ser alterado. Os antibióticos também são de grande valor para proteger os contatos do paciente contra a disseminação de um surto.

Listeriose

A *Listeria monocytogenes* é um bacilo gram-positivo conhecido por causar natimorte e doença neurológica em animais muito antes de ser reconhecido como causador de doença humana. Excretado nas fezes de animais, é amplamente distribuído no solo e na água. O nome é derivado da proliferação dos monócitos (um tipo de leucócito) encontrados em alguns animais infectados pelo bacilo. Nos últimos anos, a doença **listeriose** mudou de uma doença de importância muito limitada para uma causa de grande preocupação para a indústria de alimentos e as autoridades de saúde. Desde a introdução da vacinação Hib, a listeriose se tornou a quarta causa mais comum de meningite bacteriana.

A doença aparece em duas formas básicas: em adultos infectados e como uma infecção em fetos e recém-nascidos. Nos adultos humanos, ela normalmente é uma doença branda, em geral sem sintomas, porém o micróbio algumas vezes invade o SNC, causando a meningite. Isso é muito provável de acontecer com pessoas cujo sistema imune esteja comprometido, como uma pessoa com câncer, diabetes ou Aids, ou que estejam tomando medicamentos imunossupressivos. A taxa de mortalidade para as infecções do SNC pode chegar a 50%. Algumas vezes, a *L. monocytogenes* invade a corrente sanguínea e causa uma ampla variedade de condições clínicas, especialmente sepse. Pessoas que se recuperam ou aparentemente saudáveis em geral liberam indefinidamente o patógeno nas fezes. Um fator importante de sua virulência é que, quando a *L. monocytogenes* é ingerida pelas células fagocíticas, ela não é destruída, podendo até proliferar dentro das células, principalmente no fígado. Ela também tem a capacidade incomum de se mover diretamente de um fagócito para outro adjacente (**Figura 22.5**).

A *L. monocytogenes* é especialmente perigosa quando infecta uma mulher grávida. A mulher geralmente sofre sintomas leves, parecidos com os de um resfriado. O feto, entretanto, pode ser infectado via placenta, em geral resultando em aborto ou bebê natimorto. Em alguns casos, a doença não é manifestada até algumas semanas depois do nascimento, em geral como meningite, o que pode resultar em dano significativo ao cérebro ou morte. A taxa de mortalidade infantil associada com esse tipo de infecção é de cerca de 60%.

Nos surtos humanos, o micro-organismo é principalmente de origem alimentar. Ele com frequência é isolado de uma ampla variedade de alimentos; frios prontos para o consumo e laticínios têm estado envolvidos em vários surtos. A *L. monocytogenes* é um dos poucos patógenos capazes de crescer em temperaturas de refrigerador, o que pode resultar em um aumento do seu número durante a vida útil do alimento na prateleira. A Food and Drug Administration (FDA) aprovou recentemente o uso de um *spray* contendo bacteriófagos capazes de matar pelo menos 170 cepas de *L. monocytogenes* em frios prontos para o consumo. Se houver a aprovação pelo consumidor, o *spray* pode ser um modelo para produtos similares para o controle de outros patógenos de origem alimentar.

Esforços para melhorar os métodos de detecção de *L. monocytogenes* nos alimentos estão em andamento. Um progresso considerável tem sido feito com meios de crescimento seletivo e testes bioquímicos rápidos. Entretanto, sondas de DNA e testes sorológicos que usam anticorpos monoclonais se mostram os mais satisfatórios (veja o Capítulo 10). O diagnóstico em seres humanos depende do isolamento e do cultivo do patógeno, geralmente do sangue ou do CSF. A penicilina G é o antibiótico de escolha para o tratamento.

As causas microbianas da meningite e da encefalite estão resumidas em Doenças em Foco 22.1.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a meningite causada pelo patógeno *Listeria monocytogenes* muitas vezes é associada com a ingestão de alimentos refrigerados? **22-3**

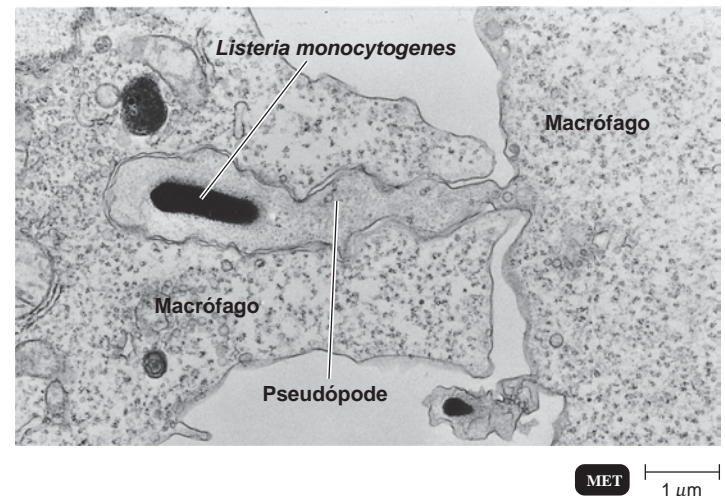



Figura 22.5 Disseminação célula-célula da *Listeria monocytogenes*, a causa da listeriose. Note que a bactéria induziu o macrófago à direita, no qual ela residia, a formar um pseudópode, que agora é engolfado pelo macrófago à esquerda. Em breve, o pseudópode será destacado, e o micróbio será transferido para o macrófago à esquerda.

P Como a listeriose é contraída?

✓ Que fluido do corpo é obtido como amostra para diagnosticar a meningite bacteriana? **22-4**

Tétano

O agente causador do **tétano**, o *Clostridium tetani*, é um bacilo gram-positivo, anaeróbico obrigatório e formador de endosporos. Ele é muito comum em solo contaminado com fezes de animais.

Os sintomas do tétano são causados por uma neurotoxina extremamente potente, a *tetanospasmina*, que é liberada após a morte e a lise das bactérias em crescimento (veja o Capítulo 15). Ela penetra o SNC via nervos periféricos ou sangue. As bactérias em si não se disseminam a partir do local de infecção, e não há inflamação.

Em um trabalho normal do músculo, um impulso nervoso inicia a contração muscular. Ao mesmo tempo, o músculo oposto recebe um sinal para relaxar, de modo que não se oponha à contração. A neurotoxina tetânica bloqueia a via de relaxamento para que ambos os conjuntos de contração se contraiam, resultando nos espasmos musculares característicos. Os músculos da mandíbula são afetados no início da doença, impedindo a abertura da boca, uma condição conhecida como *trismo*. Nos casos extremos, os espasmos dos músculos das costas fazem com que a cabeça e os calcanhares se inclinem para trás, uma condição chamada de *opistótono* (**Figura 22.6**). Progressivamente, outros músculos esqueléticos tornam-se afetados, incluindo aqueles envolvidos na deglutição. A morte resulta de espasmos dos músculos respiratórios.

Como o micróbio é um anaeróbico obrigatório, a ferida pela qual ele entra no organismo deve oferecer condições para o crescimento anaeróbico – por exemplo, ferimentos profundos limpos inadequadamente, como aqueles causados por pregos enferrujados (e, portanto, supostamente contaminados com sujeira). Os usuários de drogas injetáveis são de alto risco; higienização durante a injeção

Figura 22.6 Um caso avançado de tétano. Um desenho de um soldado britânico durante as guerras napoleônicas. Esses espasmos, conhecidos como opistótonos, podem resultar em fratura da espinha dorsal. (Desenho de Charles Bell, do Royal College of Surgeons, Edinburgo).

P Qual o nome da toxina que causa o opistótono?

não é uma prioridade, e as drogas muitas vezes estão contaminadas. Entretanto, muitos casos de tétano são provenientes de ferimentos insignificantes, como sentar sobre uma tachinha, que são considerados muito pequenos para chamar a atenção de um médico.

Vacinas eficazes para o tétano estão disponíveis desde a década de 1940. Contudo, a vacinação nem sempre foi tão comum como é hoje, sendo parte da vacina DTaP padrão da infância (difteria, tétano e pertussis acelular). Atualmente, cerca de 96% das crianças de seis anos nos Estados Unidos apresentam boa imunidade, mas apenas cerca de 30% das pessoas de 70 anos a possuem. A vacina antitetânica é um *toxoide*, uma toxina inativada que estimula a formação de anticorpos que neutralizam a toxina produzida pela bactéria. Um reforço é exigido a cada 10 anos para manter uma boa imunidade, mas muitas pessoas não tomam essas vacinas. Pesquisas sorológicas mostram que pelo menos 50% da população norte-americana não têm proteção adequada. De fato, 70% dos casos de tétano nos Estados Unidos ocorrem em pessoas com mais de 50 anos. Algumas nunca foram imunizadas, e outras perderam os níveis eficazes de anticorpos ao longo do tempo.

Mesmo assim, a imunização fez do tétano uma doença rara nos Estados Unidos – tipicamente, menos de 50 casos por ano. Em 1903, 406 pessoas morreram de tétano por lesões relacionadas a fogos de artifício. (As explosões de fogos de artifício introduzem as partículas do solo profundamente no tecido humano.) No mundo inteiro, há uma estimativa de 1 milhão de casos anualmente. Pelo menos metade ocorre em recém-nascidos. Em muitas partes do mundo, o cordão umbilical cortado dos bebês é recoberto com materiais como terra, argila e mesmo estrume de gado. As estimativas são de que a taxa de mortalidade do tétano seja de cerca de 50% nas regiões em desenvolvimento; nos Estados Unidos, a taxa é de cerca de 25%.

Quando um ferimento é grave o bastante para exigir a atenção de um médico, este deve decidir se é necessário oferecer proteção contra o tétano. Geralmente não há tempo suficiente para administrar o toxoide para produzir anticorpos e bloquear a progressão da infecção, mesmo se dado como um reforço a um paciente que foi imunizado. Entretanto, uma imunidade temporária pode ser conferida pela *imunoglobulina antitetânica* (*TIG*, de *tetanus immune globulin*), preparada do soro contendo anticorpos de seres humanos imunizados. (Antes da Primeira Guerra Mundial, muito antes do toxoide tetânico se tornar disponível, preparações similares de anticorpos pré-formados chamados de *antissoro* eram usadas. Produzidos ao inocular os cavalos, os antissoros eram muito eficazes em diminuir a incidência do tétano em pessoas com ferimentos.)

A decisão de um médico para o tratamento depende em grande parte da extensão das lesões profundas e do histórico de imunização do paciente, que pode não estar consciente. As pessoas com ferimentos extensos que receberam antes três doses ou mais do toxoide dentro dos últimos 10 anos seriam consideradas protegidas, sem que qualquer ação fosse necessária. Para ferimentos extensos em pacientes com imunidade desconhecida ou baixa, a TIG seria dada para oferecer proteção temporária. Além disso, a primeira de uma série de toxoides seria administrada para proporcionar imunidade mais permanente. Quando a TIG e o toxoide são injetados, diferentes locais devem ser usados para evitar que a TIG neutralize o toxoide. Adultos recebem vacina Td (tétano e difteria), que também reforça a imunidade contra a difteria. Para minimizar a produção de mais toxina, o tecido afetado que oferece condições de crescimento para o patógeno deve ser removido, um procedimento chamado de **debridamento**, e antibióticos devem ser administrados. Entretanto, uma vez que a toxina tenha se fixado aos nervos, essa terapia é de pouco valor.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A vacina antitetânica é dirigida para a bactéria ou para a toxina produzida pela bactéria? **22-5**

Botulismo

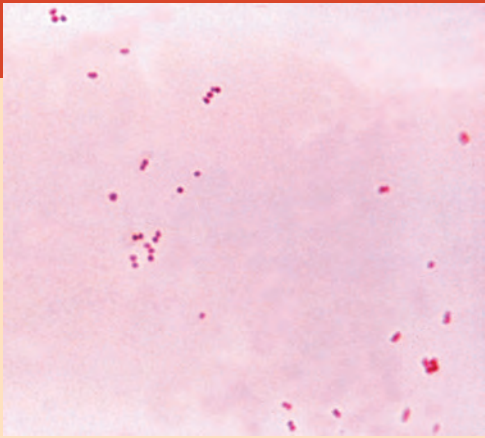
O **botulismo**, uma forma de intoxicação alimentar, é causado pelo *Clostridium botulinum*, um bacilo gram-positivo, anaeróbico obrigatório e formador de endosporos, encontrado no solo e em muitos sedimentos aquáticos. A ingestão de endosporos geralmente não causa problemas, como será explicado a seguir. Entretanto, em ambientes anaeróbicos, como os enlatados, o micro-organismo produz uma exotoxina, que é altamente específica para a terminação sináptica do nervo, onde ela bloqueia a liberação da acetilcolina, um químico necessário para a transmissão dos impulsos nervosos através das sinapses.

Pessoas que são acometidas pelo botulismo sofrem uma *paralisia flácida* progressiva por 1 a 10 dias e podem morrer de falha cardíaca e respiratória. Náusea, porém sem febre, pode anteceder os sintomas neurológicos. Os sintomas neurológicos iniciais variam, mas quase todos os pacientes apresentam visão borrada ou dupla. Outros sintomas incluem dificuldade de engolir e fraqueza generalizada. O tempo de incubação varia, mas os sintomas tipicamente aparecem dentro de um ou dois dias. Como com o tétano, a recuperação da doença não confere imunidade, pois a toxina muitas vezes não está presente em quantidades altas o bastante para ser efetivamente imunogênica.

O botulismo foi descrito pela primeira vez como uma doença clínica no início de 1800, quando era conhecido como a doença da salsicha (*botulus* é a palavra latina para salsicha). O chouriço, o tipo geralmente envolvido, era feito enchendo-se o estômago de um porco com sangue e carne moída, amarrando as extremidades, fervendo-o por um curto período e defumando-o sobre o fogão à

DOENÇAS EM FOCO 22.1

Meningite e encefalite

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Por exemplo, um funcionário em uma creche no leste de North Dakota, Estados Unidos, apresentou febre, erupções, cefaleia e dor abdominal. O paciente mostrou uma piora clínica precipitada e morreu no primeiro dia de hospitalização. Uma coloração de Gram do fluido cerebrospinal é mostrada na figura. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Coloração de Gram do fluido cerebrospinal MO

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Método de transmissão	Tratamento	Prevenção
DOENÇAS BACTERIANAS	-	-	-	-	-
Meningite por *Haemophilus influenzae*	*H. influenzae*	Trato respiratório	Infecção endógena; aerossol	Cefalosporina	Vacina capsular Hib
Meningite meningocócica	*Neisseria meningitidis*	Trato respiratório	Aerossol	Cefalosporina	Vacina capsular contra os sorotipos A, C, Y e W-135
Meningite pneumocócica	*Streptococcus pneumoniae*	Trato respiratório	Aerossol	Cefalosporina	Vacina de polissacarídeo
Listeriose	*Listeria monocytogenes*	Boca	Infecção de origem alimentar	Penicilina G	Pasteurização e cozimento dos alimentos
DOENÇAS FÚNGICAS	-	-	-	-	-
Criptococose	*Cryptococcus neoformans, C. grubii, C. gatii*	Trato respiratório	Inalação de solo contaminado com esporos	Anfotericina B, flucitosina	Nenhuma
DOENÇAS PARASITÁRIAS	-	-	-	-	-
Meningoencefalite primária por ameba	*Naegleria fowleri*	Membrana mucosa	Natação	Anfotericina B	Nenhuma
Encefalite granulomatosa por ameba	*Acanthamoeba* spp.; *Balamuthia mandrillaris*	Membrana mucosa	Natação	Anfotericina B	Nenhuma

lenha. O chouriço era então estocado à temperatura ambiente. Essa tentativa de preservação do alimento incluía a maioria dos requerimentos para um surto de botulismo. Esse procedimento matava as bactérias competitivas, porém permitia que os endosporos termoestáveis do *C. botulinum* sobrevivessem, e oferecia condições anaeróbicas e um período de incubação para a produção da toxina.

A toxina botulínica é destruída pelo método mais comum de cozimento, ferver o alimento. Hoje os embutidos raramente causam o botulismo, em grande parte porque são adicionados nitritos a eles. Os nitritos impedem que o *C. botulinum* cresça depois que os endosporos tiverem germinado.

A toxina botulínica não é formada em alimentos ácidos (pH abaixo de 4,7). Alimentos como os tomates podem, portanto, ser preservados com segurança sem o uso de uma panela de pressão. Houve casos de botulismo de alimentos ácidos que normalmente não teriam sustentado o crescimento dos organismos botulínicos; entretanto, a maioria dos episódios está relacionada ao crescimento de bolor, que metabolizou ácido o bastante para permitir que o *C. botulinum* comece a crescer.

Tipos de botulismo

Existem vários tipos sorológicos de toxinas botulínicas produzidas por diferentes cepas do patógeno. Elas diferem consideravelmente em suas virulências e outros fatores.

A *toxina tipo A* provavelmente é a mais virulenta. Mortes resultaram da toxina tipo A quando o alimento foi apenas provado, mas não engolido. É até mesmo possível absorver doses letais através de rachaduras na pele enquanto se manipula amostras laboratoriais.

Figura 22.7 Funeral de uma família de Oregon aniquilada pelo botulismo em 1924. O surto foi causado por vagens preparadas em conserva caseira. Ao todo foram 12 mortes, mas dois funerais foram realizados em igrejas diferentes.

P Que consequência drástica é provável nos dias de hoje?

Nos casos não tratados, a taxa de mortalidade é de 60 a 70%. O endosporo tipo A é o mais resistente ao calor de todas as cepas de *C. botulinum*. Nos Estados Unidos, ele é encontrado principalmente na Califórnia, em Washington, no Colorado, no Oregon e no Novo México. O organismo tipo A geralmente é proteolítico (a quebra das proteínas pelo clostrídio libera aminas com odores desagradáveis), mas o odor óbvio de deterioração nem sempre é aparente nos alimentos com baixo teor de proteínas, como o milho e o feijão (**Figura 22.7**).

A *toxina tipo B* é responsável pela maioria dos surtos europeus de botulismo, sendo o tipo mais comum no leste dos Estados Unidos. A taxa de mortalidade nos casos sem tratamento é de cerca de 25%. Os organismos do botulismo tipo B ocorrem nas cepas proteolíticas e não proteolíticas.

A *toxina tipo E* é produzida pelos organismos do botulismo que geralmente são encontrados nos sedimentos marinhos ou lacustres. Portanto, os surtos comumente envolvem mariscos e são muito comuns no Pacífico Noroeste, no Alasca e na região dos Grandes Lagos, nos Estados Unidos. O endosporo do botulismo tipo E é menos resistente ao calor que as outras cepas e em geral é destruído por fervura. O tipo E é não proteolítico, de modo que a probabilidade de detectar deterioração pelo odor em alimentos com alto teor de proteínas, como o peixe, é mínima. O patógeno também é capaz de produzir toxina em temperaturas de refrigeradores e exige condições anaeróbicas menos rigorosas para o crescimento.

Incidência e tratamento do botulismo

O botulismo não é uma doença comum. Apenas alguns casos são registrados por ano, mas surtos em reuniões ou restaurantes ocasionalmente envolvem 20 a 30 casos. Cerca de metade dos casos são tipo A, e os tipos B e E representam a outra metade. Pessoas nativas do Alasca provavelmente apresentam a maior taxa de botulismo no mundo, em grande parte do tipo E. O problema surge dos métodos de preparação de alimentos, que refletem uma tradição cultural de evitar o uso de combustíveis escassos para o aquecimento ou o cozimento. Por exemplo, um alimento envolvido nos surtos de botulismo no Alasca é o *muktuk*. O muktuk é preparado fatiando as nadadeiras de focas ou baleias em tiras, deixando-as secar por alguns dias. Para deixá-las mais macias, elas são estocadas anaerobicamente em um recipiente com óleo de foca por várias semanas, até quase a putrefação. A taxa de mortalidade do botulismo tipo E observada nos últimos anos entre os nativos do Alasca reflete a dificuldade de obter tratamento imediato do grupos étnicos isolados.

Os organismos do botulismo parecem não ser capazes de competir com sucesso com a microbiota intestinal normal, de modo que a produção da toxina pelas bactérias ingeridas quase nunca causa botulismo em adultos. Entretanto, a microbiota intestinal dos bebês não está bem estabelecida, e eles podem sofrer de **botulismo do lactente**. Cerca de 100 casos ocorrem nos Estados Unidos anualmente, várias vezes mais do que qualquer outra forma de botulismo. Embora os bebês tenham ampla oportunidade de ingerir solo e outros materiais contaminados com os endosporos do organismo, muitos casos registrados foram associados com o mel. Os endosporos de *C. botulinum* são encontrados com frequência no mel, e uma dose letal pode ser tão pequena quanto 2.000 bactérias. A recomendação é não dar mel a crianças com menos de um ano de idade; não há problema com crianças mais velhas ou adultos que apresentam a microbiota intestinal normal. A antitoxina usada em adultos é derivada de cavalos e apresenta graves efeitos colaterais, incluindo *doença do soro* (imunocomplexos formados pela reação com antígenos na antitoxina) e potencial anafilaxia. Para o botulismo do lactente foi proposto um tratamento mais seguro para neutralizar as toxinas: imunoglobulina humana intravenosa (em vez das preparações derivadas de equinos usadas em adultos).

O botulismo é diagnosticado ao inocular camundongos com amostras de soro, fezes ou vômito do paciente (**Figura 22.8**). Diferentes grupos de camundongos são imunizados com antitoxina tipo A, B ou E. Todos os camundongos são então inoculados com a toxina-teste; se, por exemplo, aqueles protegidos com a antitoxina tipo A são os únicos sobreviventes, então a toxina é tipo A. A toxina no alimento pode ser identificada de modo similar pela inoculação de camundongos.

O patógeno do botulismo também pode crescer em ferimentos de um modo semelhante ao clostrídio causador do tétano ou da gangrena gasosa (veja o Capítulo 23). Esses episódios de **botulismo em ferimentos** ocorrem ocasionalmente.

O tratamento do botulismo depende muito dos cuidados de suporte. A recuperação requer que as terminações nervosas se regenerem. Portanto, ela ocorre lentamente. Assistência respiratória prolongada pode ser necessária, e algum dano neurológico pode persistir por meses. Os antibióticos quase não têm utilidade porque a toxina é pré-formada. Antitoxinas destinadas para neutralizar as toxinas A, B e E estão disponíveis e geralmente são administradas juntas. Essa antitoxina trivalente não afetará a toxina já fixada às terminações nervosas e provavelmente é mais eficaz no tipo E do que nos tipos A e B.

A toxina letal do botulismo (Botox) tem usos terapêuticos para várias condições clínicas, como cefaleias crônicas. Ela também é útil para aliviar contrações musculares dolorosas em con-

dições como paralisia cerebral, doença de Parkinson e esclerose múltipla. As injeções na região dos ferimentos faciais impedem os movimentos musculares durante a cicatrização e resultam em formação de cicatriz mais apresentável. A toxina foi aprovada para controlar espasmos involuntários das pálpebras (blefarospasmo), olhos cruzados (estrabismo) e até mesmo suor excessivo (hiperidrose). Este último, exigindo duas dispendiosas injeções por ano, impede o suor na axilas. Isso pode ser significativo para modelos profissionais e outras pessoas que precisam considerar o custo de roupas desenhadas por costureiros famosos. Entretanto, a aplicação mais difundida tem sido puramente cosmética: injeções periódicas locais de Botox para eliminar rugas da testa (marcas de expressão).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O nome *botulismo* é derivado do fato de que a salsicha era o alimento mais comum causador da doença. Por que a salsicha nos dias de hoje raramente é uma causa de botulismo? **22-6**

Figura 22.8 Diagnóstico do botulismo pela identificação do tipo de toxina botulínica. Para determinar se a toxina botulínica está presente, os camundongos são injetados com a porção líquida dos extratos do alimento ou de culturas livres de células. Se os camundongos morrerem dentro de 72 horas, a toxina está presente. Para determinar o tipo específico da toxina, grupos de camundongos são passivamente imunizados com o antissoro específico para o *C. botulinum* dos tipos A, B ou E. Por exemplo, se um grupo de camundongos recebendo uma antitoxina específica vive e os outros camundongos morrem, o tipo de toxina no alimento ou na cultura foi identificado.

P Quais são os sintomas do botulismo?

Lepra

O *Mycobacterium leprae* provavelmente é a única bactéria que cresce no SNP, embora possa crescer nas células da pele. Ele é um bacilo ácido-resistente intimamente relacionado ao patógeno da tuberculose, o *Mycobacterium tuberculosis*. O organismo foi isolado e identificado pela primeira vez por volta de 1870, por Gerhard A. Hansen, da Noruega; sua descoberta foi uma das primeiras ligações descobertas entre uma bactéria específica e uma doença. **Hanseníase** é o nome mais formal para a **lepra**, sendo usado algumas vezes para evitar o temido nome.

O micro-organismo tem uma temperatura ótima de crescimento a 30°C e mostra uma preferência por partes frias, mais externas do corpo humano. Ele sobrevive à ingestão por macrófagos e finalmente invade as células da bainha de mielina do SNP, no qual sua presença causa dano ao nervo a partir de uma resposta imune celular. Estima-se que o *M. leprae* tenha um tempo de geração muito longo, de cerca de 12 dias. O *M. leprae* nunca foi crescido em meio artificial. Descobriu-se que os tatus são uma maneira útil de cultivar o bacilo da lepra; eles apresentam uma temperatura de 30 a 35°C e muitas vezes são infectados na natureza. Vários texanos contraíram lepra pelo contato com tatus no Estado do Texas, Estados Unidos, onde são comuns. Provavelmente o modo mais eficaz, entretanto, de cultivar o *M. leprae* seja o inóculo das patas do camundongo *nude* (veja a **Figura 19.12**, página 539). A possibilidade de cultivar a bactéria em um animal é inestimável para a avaliação de drogas quimioterápicas.

A lepra ocorre em duas formas principais (embora formas incertas também sejam reconhecidas), que aparentemente refletem a eficácia do sistema imune celular do hospedeiro. A *forma tuberculoide* (*neural*) é caracterizada por áreas da pele que perderam a sensibilidade e estão circundadas por uma borda de nódulos (**Figura 22.9a**). Essa forma clínica é praticamente a mesma que a *paucibacilar* no sistema de classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS). A forma tuberculoide ocorre em pessoas com reações imunes eficazes. A recuperação algumas vezes ocorre de forma espontânea.

Na *forma lepromatosa* (*progressiva*) da lepra (que é muito parecida com a *multibacilar* no sistema da OMS), células da pele são infectadas, e nódulos desfigurantes se formam por todo o corpo. Pacientes com esse tipo de lepra têm o mínimo de resposta imune celular eficaz, e a doença progrediu do estágio tuberculoide. As membranas mucosas do nariz tendem a se tornar afetadas, e uma aparência de face de leão está associada com esse tipo de lepra. Deformação da mão em forma de garra e necrose considerável do tecido podem ocorrer (**Figura 22.9b**). A progressão da doença é imprevisível, e remissões podem se alternar com rápida deterioração.

O modo exato de transmissão do bacilo da lepra é incerto, mas os pacientes com lepra lepromatosa liberam grandes quantidades do bacilo em suas secreções nasais e nos exsudatos (material de exsudação) de suas lesões. A maioria das pessoas adquire a infecção quando as secreções contendo o patógeno entram em contato com suas mucosas nasais. Entretanto, a lepra não é muito contagiosa, sendo muitas vezes transmitida somente entre pessoas com contato prolongado ou íntimo. O tempo desde a infecção até o aparecimento dos sintomas geralmente é medido em anos, embora as crianças possam apresentar um período menor de incubação. Morte geralmente ocorre não da lepra em si, mas das complicações, como a tuberculose.

Muito do medo da lepra pelo público pode ser atribuído às referências históricas e bíblicas da doença. Na Idade Média, as pessoas com lepra eram rigidamente excluídas da sociedade europeia normal, e algumas vezes usavam sinos para que as outras pessoas as evitassem. Esse isolamento talvez tenha contribuído para o desaparecimento quase que completo da doença na Europa. Contudo, os pacientes com lepra não são mais mantidos em isolamento, pois podem se tornar não contagiosos dentro de poucos dias pela administração de drogas sulfonas. O National Leprosy Hospital

(a) Lepra tuberculoide (neural).

(b) Lepra lepromatosa (progressiva).

Figura 22.9 Lesões da lepra. (a) A área despigmentada da pele circundada por uma borda de nódulos é típica da lepra tuberculoide (neural). **(b)** Se o sistema imune falha em controlar a doença, o resultado é a lepra lepromatosa (progressiva). Essa mão gravemente deformada mostra o dano tecidual progressivo às partes mais frias do corpo, típico desse estágio avançado.

P Que forma da lepra é mais provável de ocorrer em pessoas imunossuprimidas?

em Carville, Louisiana, costumava abrigar várias centenas de pacientes, mas foi fechado em 1999. A maioria dos pacientes atualmente é tratada em clínicas médicas, de forma ambulatorial.

O número de casos de lepra nos Estados Unidos está aumentando progressivamente. Atualmente, cerca de 100 casos são registrados por ano. Grande parte é importada; a doença geralmente é encontrada nos climas tropicais. Milhões de pessoas, grande parte delas na Ásia, na África e no Brasil, sofrem de lepra atualmente, e mais de meio milhão de novos casos é registrado a cada ano.

O teste diagnóstico padrão para a lepra é uma amostra de biópsia da pele obtida da margem de uma lesão ativa. A interpretação dessa amostra com segurança, a localização do dano ao tecido característico e a identificação do bacilo ácido-resistente dentro dos nervos requerem um patologista experiente. Procedimentos associados ao esfregaço *slit-skin* podem ser usados para enumerar as bactérias ácido-resistentes infectadas na pele. Não há testes sorológicos disponíveis.

A dapsona (uma sulfona), a rifampina e a clofazimina, um corante solúvel em gordura, são as principais drogas utilizadas para o tratamento, em geral em combinação. Uma vacina tornou-se comercialmente disponível na Índia em 1998. Ela é usada como suplemento à quimioterapia. Outras vacinas que poderiam ser úteis na prevenção estão sendo testadas. Uma descoberta encorajadora é que a vacina Bacillus Calmete-Guérin (BCG) para a tuberculose (também causada por uma espécie de *Mycobacterium*) é um pouco protetora contra a lepra.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Por que os camundongos *nude* e os tatus são importantes no estudo da lepra? **22-7**

Doenças virais do sistema nervoso

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- **22-8** Discutir a epidemiologia da poliomielite, da raiva e da encefalite por arbovírus, incluindo o modo de transmissão, a etiologia e os sintomas da doença.
- **22-9** Comparar as vacinas Sabin e Salk contra a pólio.
- **22-10** Comparar os tratamentos pré-exposição e pós-exposição para a raiva.
- **22-11** Explicar como a encefalite por arbovírus pode ser prevenida.

A maioria dos vírus que afeta o sistema nervoso entra através da circulação no sangue ou na linfa. Entretanto, alguns vírus podem penetrar os axônios dos nervos periféricos e se mover em direção ao SNC.

Poliomielite

A **poliomielite** (**pólio**) é mais conhecida como uma causa de paralisia. Entretanto, a forma paralítica da poliomielite provavelmente afete menos de 1% dos infectados com o poliovírus. A grande maioria dos casos é assintomática ou exibe sintomas brandos, como cefaleia, dor de garganta, febre e náusea.

A pólio surgiu pela primeira vez nos Estados Unidos em um surto em Vermont no verão de 1894. Depois daquilo, por décadas o país foi aterrorizado por epidemias nas estações de verão. Esses surtos anuais afetavam cada vez mais os adolescentes e os adultos jovens, e o número de casos de paralisia aumentava rapidamente. Muitas vítimas morriam quando seus músculos respiratórios eram paralisados, e milhares de crianças e jovens perderam os movimentos das extremidades permanentemente. Mais tarde, no século XX, o desenvolvimento do pulmão de ferro (**Figura 22.10**) manteve vivas milhares de pessoas com o sistema respiratório paralisado.

Por que essa doença surgiu repentinamente? A resposta é paradóxica – provavelmente por causa da melhoria do saneamento. Os poliovírus podem permanecer infecciosos por períodos relativamente longos na água e nos alimentos. O principal modo de transmissão é a ingestão de água contaminada com fezes contendo o vírus. A melhoria do saneamento adiou a exposição aos poliovírus nas fezes para depois que a proteção pelos anticorpos maternos tivesse enfraquecido. Por algum tempo (e hoje em regiões do mundo com saneamento inadequado), a exposição ao poliovírus era frequente. Os lactentes geralmente eram expostos ao poliovírus enquanto ainda eram protegidos pelos anticorpos maternos. O resultado muitas vezes era um caso assintomático da doença e uma imunidade para toda a vida. Quando a infecção é atrasada até a adolescência ou o início da fase adulta, a forma paralítica da doença aparece com mais frequência.

Pelo fato de que a infecção inicia quando o vírus é ingerido, as principais áreas de multiplicação são a garganta e o intestino delgado. Isso é responsável pela dor de garganta e a náusea no início da doença. Em seguida, o vírus invade as tonsilas e os linfonodos do pescoço e do íleo (a porção terminal do intestino delgado). Dos linfonodos, o vírus entra no sangue, resultando em *viremia*. Em grande parte dos casos, a viremia é apenas transiente, a infecção não progride fora do sistema linfático, e a doença clínica não ocorre. Entretanto, se a viremia for persistente, o vírus penetra as paredes dos capilares e entra no SNC. Uma vez no SNC, o vírus apresenta uma alta afinidade pelas células nervosas, particularmente os neurônios motores na parte superior da medula espinal. Ele não infecta os nervos periféricos ou os músculos. Quando o vírus se multiplica dentro do citoplasma dos neurônios motores, as células morrem, e a paralisia ocorre. Morte pode ocorrer da falha respiratória.

A pólio geralmente é diagnosticada pelo isolamento do vírus das fezes e das secreções da garganta. Culturas de células podem ser inoculadas, e os efeitos citopáticos nas células podem ser observados (veja a Tabela 15.4, página 443).

A incidência da pólio nos Estados Unidos tem diminuído muito desde a disponibilidade das vacinas contra a pólio (**Figura 22.11**). Os últimos casos atribuídos ao vírus selvagem foram registrados em 1979.

Existem três sorotipos diferentes de poliovírus, e a imunidade deve ser dada para todos os três. Duas vacinas estão disponíveis. A *vacina Salk*, desenvolvida em 1954, utiliza vírus que foram inativados pelo tratamento com formalina. Vacinas desse tipo, chamadas de *vacinas de pólio inativadas* (IPV, de *inactivated polio vaccines*), requerem uma série de injeções. Sua taxa de eficácia pode ser de até 90% contra a pólio paralítica. Os níveis de anticorpos diminuem com o tempo, e doses de reforço são necessárias a cada poucos anos para manter imunidade total. Usando apenas IPV, vários países europeus praticamente eliminaram a pólio de suas populações. Uma IPV mais nova foi introduzida, produzida em células diploides humanas. Conhecida como *vacina de pólio inativada reforçada* (E-IPV, de *enhanced inactivated polio vaccine*), ela substituiu a IPV original nos Estados Unidos.

A *vacina Sabin*, introduzida em 1963, contém três linhagens vivas atenuadas do vírus (trivalente), sendo mais popular do que a vacina Salk nos Estados Unidos. Ela é menos dispendiosa, e muitas pessoas preferem tomar uma gota de líquido com sabor

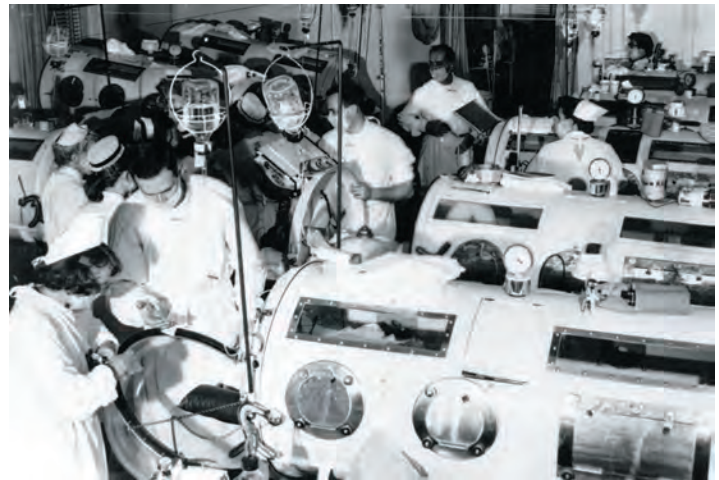



Figura 22.10 Paciente com pólio em um respirador artificial. Muitos pacientes com pólio somente eram capazes de respirar com o auxílio de respiradores artificiais. Alguns sobreviventes das epidemias de pólio ainda usam os aparelhos, pelo menos em parte do tempo. Outros são capazes de utilizar aperelhos de auxílio respiratório portáteis.

P Que percentual dos casos de pólio resultava em paralisia?

artificial de laranja contendo o vírus do que tomar uma série de injeções. A vacina Sabin também é chamada de *vacina oral contra pólio* (OPV, de *oral polio vaccine*). A imunidade intestinal obtida com a OPV se assemelha àquela adquirida pela infecção natural, e o vírus é excretado.

Uma desvantagem é que, em raras ocasiões – uma em 750.000 primeiras doses, uma em cerca de 2,4 milhões nas doses subsequentes – uma das linhagens atenuadas do vírus excretado (tipo 3) pode reverter à virulência e transmitir a doença. Esses casos geralmente ocorrem nos contatos secundários, não na pessoa que recebeu a vacina. Isso tem causado alguns casos por ano, mas também ilustra como os recipientes vacinados da vacina Sabin podem infectar os contatos, levando, em grande parte dos casos, à imunização.

Em 2000, os Centros para a Prevenção e o Controle de Doenças (CDC, de *Centers for Disease Control and Prevention*) decidiram que as vantagens da OPV não mais se sobrepunham aos riscos. A recomendação agora é usar apenas IPV para a imunização de rotina das crianças. Eles recomendam que a OPV deva ser usada apenas para controlar a disseminação dos surtos, para proteger crianças que viajam para áreas de alto risco, ou para imunizar crianças que não recebem todas as quatro aplicações da IPV dentro da programação.

Pessoas imunossuprimidas devem receber E-IPV para reduzir o risco de pólio relacionada à vacina a partir de um vírus vivo.

Após a erradicação mundial bem-sucedida da varíola, a pólio foi o alvo seguinte. Isso parecia mais difícil porque a via de transmissão oro-fecal ainda é comum em regiões menos desenvolvidas do mundo e porque a doença geralmente é difícil de diagnosticar. Por exemplo, apenas cerca de uma criança em 200 desenvolve paralisia identificável após ser infectada. Entretanto, lançada em 1988, uma campanha global para eliminar a pólio foi muito bem-sucedida. O vírus selvagem da pólio está circulando atualmente

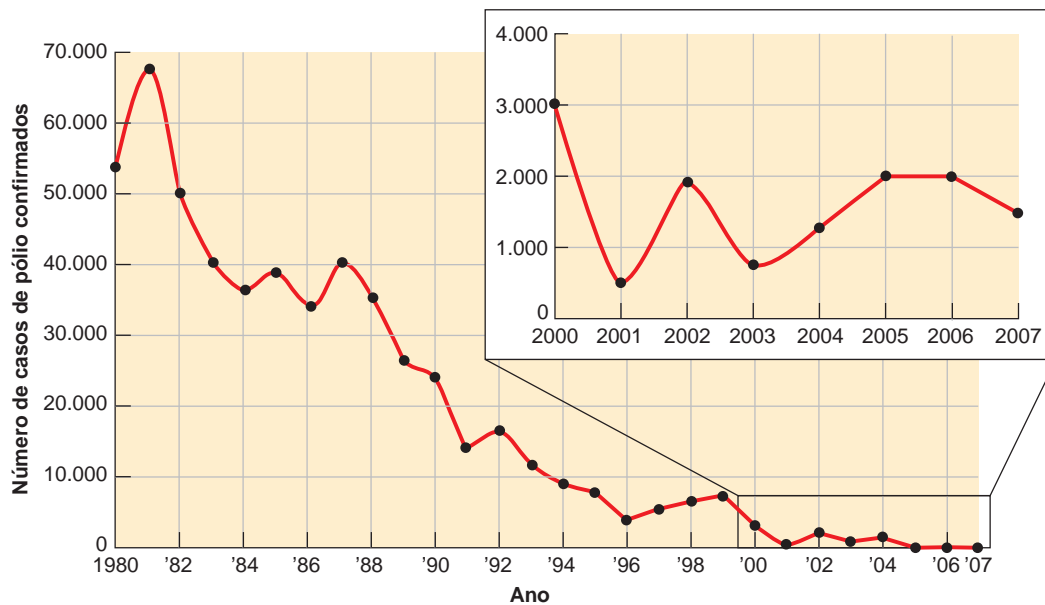



Figura 22.11 Incidência anual mundial da poliomielite. A pólio de vírus selvagens foi praticamente eliminada no mundo desenvolvido. Uma campanha global para erradicar a doença foi lançada em 1988. Se ela pode ser erradicada para sempre e completamente nas regiões menos desenvolvidas do mundo torna-se questionável.

P Por que é possível erradicar a pólio e não o tétano?

em apenas alguns países da África e da Ásia. Isso foi o resultado das enormes campanhas de vacinação nas quais na China e na Índia, por exemplo, milhões de pessoas foram imunizadas com a OPV em um único dia.

Por ser de fácil administração, a OPV contra todas as três cepas de poliovírus (OPV trivalente) é a vacina mais prática em grande parte do mundo. Entretanto, algumas pessoas imunizadas liberam mutantes virulentos derivados das vacinas por longos períodos. Em várias regiões onde a vacinação eliminou o vírus selvagem, a doença reapareceu – causada pelos vírus derivados da vacina. Entretanto, a descontinuidade das campanhas de vacinação em breve deixaria grandes populações sem imunidade. Por essa razão, pode não haver outra escolha a não ser continuar com a imunização contra a pólio, mesmo em regiões onde ela pareça ser inexistente – provavelmente usando IPV em combinação com outras vacinações de rotina.

Os estoques da OPV trivalente e as instalações de produção precisarão ser mantidos, e as crianças devem ser vacinadas rotineiramente. A vacina OPV trivalente, por várias razões, não é tão eficaz nas regiões com saneamento inadequado – notavelmente em certos distritos do norte da Índia. Mesmo assim, dos três tipos de vírus da pólio, os tipos 2 e 3 são considerados praticamente eliminados. Vacinas monovalentes destinadas à pólio tipo 1, agora considerada a ameaça mais provável, estão sendo introduzidas para combater surtos específicos. Elas são muito potentes contra essa cepa.

Durante a década de 1980, muitos adultos de meia-idade que tiveram pólio quando crianças começaram a mostrar fraqueza muscular, atualmente chamada de *síndrome pós-pólio*. Pode ser que as células nervosas que originalmente sobreviveram à pólio tenham começado a morrer. Felizmente, a doença progride de modo extremamente lento. Terapias com exercícios muitas vezes são úteis, e a pesquisa com drogas que estimulam a regeneração do nervo está em progresso.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- Por que a pólio paralítica é mais provável de ocorrer do que a infecção assintomática ou branda nas regiões com altos padrões de saneamento? **22-8**
- Por que a vacina Sabin oral da pólio é mais eficaz do que a vacina Salk injetada? **22-9**

Raiva

A **raiva** (a palavra é derivada do latim para *raiva* ou *loucura*) é uma doença que quase sempre resulta em encefalite fatal. O agente causador é o vírus da raiva, um lyssavírus que apresenta uma forma característica em bala de revólver (veja a Figura 13.18a e a discussão na página 387). Os lyssavirus são vírus de RNA de fita simples sem capacidade de leitura de prova (*proofreading*), e as cepas mutantes se desenvolvem rapidamente. Em todo o mundo, os seres humanos muitas vezes são infectados com o vírus da raiva a partir da mordida de um animal infectado – em particular os cães. O vírus prolifera no SNP e se move, fatalmente, em direção ao SNC (**Figura 22.12**). Nos Estados Unidos, a causa mais comum da raiva é uma variante do vírus encontrado nos morcegos de pelo prateado. (Animais domésticos têm uma alta taxa de vacinação.) Esse vírus tem feito uma adaptação única e pode se replicar nas células epidérmicas e então as invadir para entrar em um nervo periférico. Portanto, uma dose letal do vírus pode ser administrada através do contato com a pele intacta. Pelo fato de as mortes por raiva serem frequentemente diagnosticadas de modo inadequado, vários casos de raiva foram rastreados em tecidos transplantados do corpo, em especial as córneas.

A raiva difere de outras doenças porque seu período de incubação geralmente é longo o bastante para permitir que a imunidade se desenvolva a partir da vacinação pós-exposição. A resposta imune é ineficaz, pois os vírus são introduzidos em números muito baixos nos ferimentos, de modo a provocá-la; também, os vírus não trafegam na corrente sanguínea ou no sistema linfático, onde o sistema imune poderia responder melhor.

Inicialmente, o vírus se multiplica no músculo esquelético e no tecido conjuntivo, onde permanece alojado por períodos que se estendem de dias a meses. Então ele entra e trafega, a uma taxa de 15 a 100 mm por dia, nos nervos periféricos até o SNC, onde causa a encefalite. Em alguns casos extremos, períodos de incubação de até seis anos foram registrados, mas a média é de 30 a 50 dias. Mordidas em regiões ricas em fibras nervosas, como as mãos e a face, são muito perigosas, e o período de incubação resultante tende a ser curto.

Uma vez que o vírus entra nos nervos periféricos, ele não está acessível ao sistema imune até que as células do SNC comecem a ser destruídas, o que dispara uma resposta imune ineficaz e atrasada.

Os sintomas iniciais são leves e variados, assemelhando-se aos de várias infecções comuns. Quando o SNC é envolvido, o paciente tende a alternar entre períodos de agitação e de tranquilidade. Nesse momento, um sintoma frequente é o espasmo dos músculos da boca e da faringe, que ocorre quando o paciente é exposto a correntes de ar ou engole líquidos. Na realidade, até mesmo o simples ato de ver ou pensar em água pode disparar os espasmos – daí o nome comum *hidrofobia* (medo de água). Os estágios finais da doença resultam de dano extenso às células nervosas do cérebro e da medula espinal.

Animais com **raiva furiosa** estão inicialmente agitados, ficam altamente excitáveis e tentam morder qualquer coisa ao alcance. O comportamento de morder é essencial para manter o vírus na população animal. Os seres humanos também exibem sintomas similares aos da raiva, até mesmo mordendo outras pessoas. Quando a paralisia se estabelece, o fluxo da saliva aumenta à medida que a deglutição se torna difícil, e o controle nervoso é progressivamente perdido. A doença é quase sempre fatal dentro de poucos dias.

Alguns animais sofrem de **raiva paralítica**, na qual há apenas excitabilidade mínima. Essa forma é muito comum nos gatos. O animal permanece relativamente tranquilo e até mesmo alheio a seu ambiente, mas pode atacar irritadamente se acariciado. Uma manifestação similar de raiva ocorre em seres humanos e é muitas vezes diagnosticada erroneamente como síndrome de Guillain-Barré, uma forma de paralisia que costuma ser transitória, mas algumas vezes pode ser fatal, ou outras condições neurológicas. Existe alguma especulação de que as duas formas da doença podem ser causadas por formas levemente diferentes do vírus.

A raiva em geral é diagnosticada em laboratório pela detecção do antígeno viral usando o teste de anticorpo fluorescente direto (DFA, de *direct fluorescent-antibody*), quase 100% sensível e altamente específico. Esse teste pode ser feito em amostras de saliva ou biópsias de certos tecidos externos; amostras pós-morte geralmente são obtidas do cérebro. Para as regiões menos desenvolvidas do mundo, o CDC desenvolveu recentemente um *teste imuno-histoquímico rápido* (RIT, de *rapid immunohistochemical test*). Ele requer apenas o uso de um microscópio óptico comum e tem sensibilidade e especificidade equivalentes ao teste DFA padrão.

Prevenção da raiva

Apenas as pessoas de alto risco, como os funcionários de laboratórios, os profissionais de controle animal e os veterinários, são vacinados rotineiramente contra a raiva antes de exposição conhecida. Se uma pessoa é mordida, o ferimento deve ser cuidadosamente lavado com água e sabão. Se o animal for positivo para a raiva, a

Figura 22.12 Patologia da infecção pela raiva.

P Qual é o tratamento pós-exposição para a raiva?

pessoa deve receber profilaxia pós-exposição (PEP, de *postexposure prophylaxis*) – que significa uma série de vacinas antirrábicas e injeções de imunoglobulina. Outra indicação para o tratamento antirrábico é qualquer mordida por gambá, morcego, raposa, coiote, lince ou guaxinim que não esteja disponível para exame. O tratamento após uma mordida de cão ou gato, caso o animal não possa ser encontrado, é determinado pela prevalência de raiva na região. A mordida de um morcego pode não ser perceptível, podendo mesmo ser impossível excluir uma mordida em casos em que o morcego teve acesso a pessoas dormindo ou a crianças pequenas. Portanto, o CDC recomenda a PEP após qualquer encontro significativo com um morcego – a menos que ele seja testado e o resultado seja negativo para raiva.

O tratamento original de Pasteur, no qual o vírus era atenuado ao secar nas medulas espinais de coelhos infectados com raiva, foi substituído nos Estados Unidos pela *vacina de células diploides humanas* (HDCV, de *human diploid cell vaccine*), ou por vacinas crescidas em embrião de galinha. Essas vacinas são administradas em uma série de cinco ou seis injeções, em intervalos, durante um período de 28 dias. A imunização passiva é fornecida simultaneamente injetando-se *soro antirrábico* (RIG, de *rabies immune globulin*) que foi coletado de pessoas que estão imunizadas contra a raiva.

Tratamento da raiva

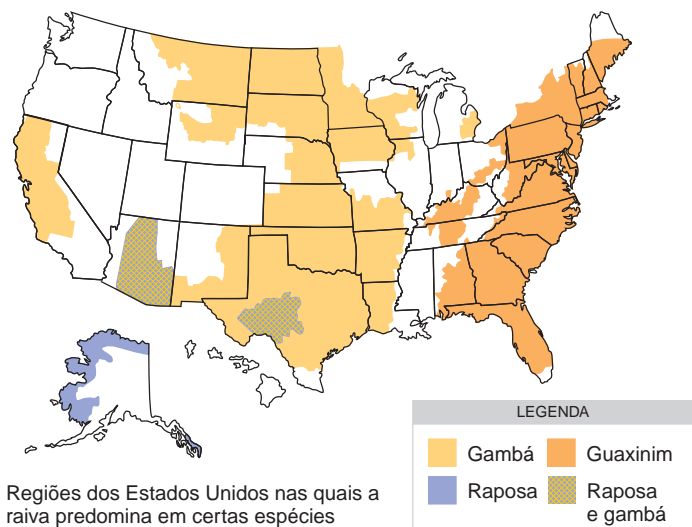
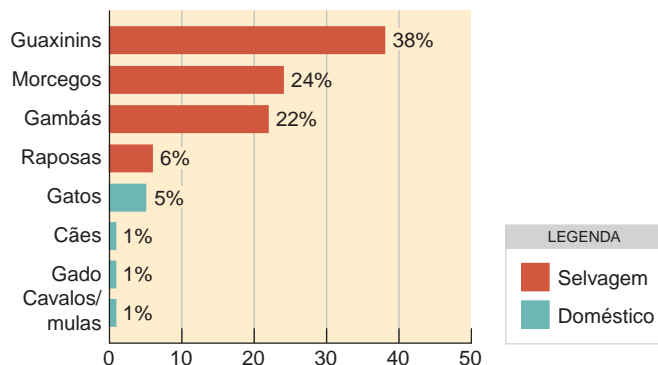
Assim que os sintomas da raiva aparecem, não há muito que possa ser feito – existe registro de apenas alguns sobreviventes. Cinco

Regiões dos Estados Unidos nas quais a raiva predomina em certas espécies selvagens. Morcegos infectados com raiva foram registrados em 47 dos 48 estados contíguos. Nos estados do leste, onde os guaxinins são os animais predominantes infectados com raiva, muitos casos também foram registrados em raposas e gambás.

Casos de raiva em vários animais selvagens e domésticos nos Estados Unidos. A raiva em animais domésticos como cães e gatos é incomum por causa das altas taxas de vacinação. Guaxinins, gambás e morcegos são os animais mais prováveis de serem infectados com a raiva. Grande parte dos casos humanos é causada por mordidas de morcegos. Mundialmente, a maioria dos casos humanos é causada por mordidas de cães.

Figura 22.13 **Casos registrados de raiva em animais.** A raiva em raposas inclui espécies diferentes em regiões geográficas diferentes. *Fonte*: CDC 2006.

P Qual o principal reservatório para o vírus da raiva em sua região?

sobreviventes receberam PEP antes do aparecimento dos sintomas. Existe apenas uma sobrevivência registrada de um paciente que não recebeu PEP. Esse caso bastante recente é de uma garota de 15 anos mordida por um morcego raivoso. O tratamento primário foi induzir um coma prolongado para minimizar a excitabilidade enquanto se administrava as drogas antivirais. Ela sobreviveu com alguns sintomas neurológicos residuais.

Distribuição da raiva

A raiva ocorre em todo o mundo, principalmente como resultado de mordidas de cachorro. A vacinação de animais de estimação é muito cara em grande parte da África, na América Latina e na Ásia. Nessas regiões, dezenas de milhares de mortes por raiva ocorrem anualmente. Nos Estados Unidos, a vacinação de animais de estimação é quase total, mas a raiva é disseminada entre os animais selvagens, predominantemente morcegos, gambás, raposas e guaxinins, embora seja encontrada também nos animais domesticados (**Figura 22.13**). Cerca de 40.000 pessoas recebem vacina pós-exposição contra raiva a cada ano, geralmente como precaução quando a condição do animal que mordeu não pode ser determinada. A raiva quase nunca é encontrada em esquilos, coelhos, ratos ou camundongos. A doença há muito tempo é endêmica em morcegos vampiros da América do Sul. Na Europa e na América do Norte, estão sendo relizados experimentos para imunizar animais selvagens com a vacina viva da raiva produzida em vírus vacínia geneticamente modificados que são adicionados aos alimentos deixados para os animais. Nos Estados Unidos, verificou-se que raposas cinzentas preferem comida de cachorro com sabor artificial de baunilha. Os coiotes não são tão exigentes. Na Europa, esses experimentos foram altamente bem-sucedidos e vários países têm se declarado livres da raiva como resultado.

Nos Estados Unidos, 7.000 a 8.000 casos de raiva são diagnosticados em animais a cada ano, mas nos últimos anos, apenas 1 a 6 casos foram diagnosticados em seres humanos anualmente (veja o quadro na página a seguir).

Encefalite relacionada ao *Lyssavirus*

Nos últimos anos, alguns casos fatais de encefalite clinicamente indistinguíveis da raiva clássica ocorreram na Austrália e na Escócia – países considerados livres da raiva. Verificou-se que esses casos foram causados por genótipos do gênero *Lyssavirus* (veja a página 387) que estão diretamente relacionados ao vírus da raiva clássica: o *Lyssavirus* do morcego australiano (ABLV, de *australian bat lyssavirus*) e o *Lyssavirus* do morcego europeu (EBLV, de *european bat lyssavirus*).* A raiva clássica é causada por um dos sete genótipos conhecidos do gênero *Lyssavirus* e é disseminada mundialmente. Outros *Lyssavirus* que causam a encefalite são nativos da Europa, da Austrália, da África e das Filipinas, mais comumente em morcegos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a vacinação pós-exposição contra raiva é uma opção prática? **22-10**

Encefalite por arbovírus

A encefalite causada por vírus transmitidos por mosquitos (chamados de arbovírus) é bastante comum nos Estados Unidos. (*Arbovírus* é uma abreviação de *arthropod-borne virus*, vírus transmitido por artrópode. Essa terminologia representa um agrupamento

* Sabe-se atualmente que muitas doenças – raiva e doenças por *Lyssavirus* similares, SARS, os vírus Ebola, Hendra e Nipah – são transmitidas por morcegos. Há motivos pelos quais os morcegos são bons reservatórios da doença: existem mais de mil espécies que ocupam vários nichos; eles apresentam vida longa (5 a 30 anos), o que propicia a estabilidade como reservatório; tendem a se alojar em grupos, o que facilita a disseminação viral; e voam distâncias relativamente longas quando estão à procura de alimento – alguns são até mesmo migratórios. Finalmente, os morcegos parecem ser capazes de carregar os vírus por longos períodos sem eliminar a infecção ou se tornarem doentes.

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Uma doença neurológica

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os clínicos se perguntam quando realizam um diagnóstico e tratamento. Tente responder cada questão antes de passar à seguinte.

1. No dia 30 de setembro, uma garota de 10 anos apresentou dor e fraqueza no braço direito e temperatura de 38,3°C. No dia 3 de outubro, ela apresentou vômito e aumento da dor no braço, juntamente com dormência.
   O que isso poderia indicar?
2. Um teste rápido de antígeno estreptocócico do grupo A deu negativo. A paciente foi hospitalizada em 7 de outubro, quando apresentou dificuldade para engolir. A língua apresentava uma camada esbranquiçada e projetava-se para fora da boca.
   Que infecções são possíveis?
3. Ela foi tratada com fluconazol para candidíase na mucosa. Em 8 de outubro, uma punção lombar demonstrou contagem elevada de células brancas do sangue.
   O que isso indica?
4. A paciente foi tratada com vancomicina para meningoencefalite. Ela então apresentou hipersalivação e letargia.
   O que isso sugere? Como você confirmaria a doença?
5. Raiva foi confirmada por coloração direta com anticorpo fluorescente de uma biópsia da pele para os antígenos do vírus da raiva. A paciente morreu em 2 de novembro. Muitas inclusões do vírus da raiva foram vistas no cérebro (**Figura A**).
   Como você trataria as pessoas que tiveram contato com a paciente em outubro e novembro?
6. A profilaxia pós-exposição (PEP, de *postexposure prophylaxis*) foi administrada em 66 pessoas, incluindo 31 pessoas na escola em que a paciente estudava.
   A demora no diagnóstico afetou o resultado da doença?
7. O diagnóstico precoce nem sempre pode salvar um paciente; entretanto, pode ajudar a minimizar o número de exposições potenciais e a necessidade de PEP.
   O que mais deve ser estabelecido sobre esse caso?
8. Em meados de junho, a garota acordou durante a noite e disse que um morcego voou para dentro de seu quarto e a mordeu. Sua mãe limpou uma pequena marca no braço da garota com um antisséptico sem prescrição médica, porém presumiu que o incidente tivesse sido um pesadelo. Dois dias depois, uma criança mais velha retirou um morcego morto do quintal. A mãe não associou o morcego com o evento anterior e não procurou PEP para a garota.

   A sequência nucleotídica do produto de PCR foi usada para identificar uma variante do vírus da raiva associada com morcegos de pelos prateados (**Figura B**).

   Por que a vigilância e a notificação de casos de raiva são importantes nos Estados Unidos?
9. Durante 2000 a 2007, um total de 20 dos 25 casos de raiva humana registrados nos Estados Unidos foi adquirido nos Estados Unidos. A raiva humana é evitável com cuidados apropriados do ferimento e a tempo, assim como administração apropriada de soro antirrábico humano e vacinas contra a raiva antes do início dos sintomas clínicos.

Figura A Corpúsculos de Negri apontados pela seta em um neurônio infectado.

Figura B Morcego de pelos prateados.

Fonte: Adaptado de *MMWR* 56(15):561-565, 20 de abril de 2007, e *MMWR* 57(8):197-200, 29 de fevereiro de 2008.

funcional; não é um termo taxonômico formal.) A incidência da doença aumenta nos meses do verão, coincidindo com a proliferação dos mosquitos adultos. *Animais sentinela*, como galinhas em gaiolas, são testados periodicamente para anticorpos contra os arbovírus. Isso fornece informações oficiais de saúde sobre a incidência e os tipos de vírus em sua região.

Vários tipos clínicos de encefalite por arbovírus foram identificados; todos podem causar sintomas que variam de subclínicos a graves, incluindo morte rápida. Casos ativos dessas doenças são caracterizados por calafrios, cefaleia e febre. Quando a doença progride, ocorrem confusão mental e coma. Os sobreviventes podem sofrer de problemas neurológicos permanentes.

Os cavalos, assim como os seres humanos, frequentemente são afetados por esses vírus; dessa maneira, existem cepas que causam a *encefalite equina oriental* (EEE, de *eastern equine encephalitis*) e a *encefalite equina ocidental* (WEE, de *western equine encephalitis*). Esses dois vírus são os mais prováveis de causar doença grave em seres humanos. A EEE é a mais grave; a taxa de mortalidade é de 30% ou mais, e os sobreviventes sofrem uma alta incidência de dano ao cérebro, surdez e outros problemas neurológicos. A EEE é incomum (seu principal mosquito vetor prefere se alimentar de pássaros); apenas cerca de 100 casos por ano são registrados. A WEE raramente tem sido registrada nos últimos anos e tem uma taxa de mortalidade estimada em cerca de 5%.

A *encefalite de Saint Louis* (SLE, de *Saint Louis encephalitis*) adquiriu seu nome a partir da localização de um grande surto inicial (no qual foi originalmente descoberto que os mosquitos estão envolvidos na transmissão dessas doenças). A SLE está distribuída do sul do Canadá à Argentina, mas em grande parte na região central e no

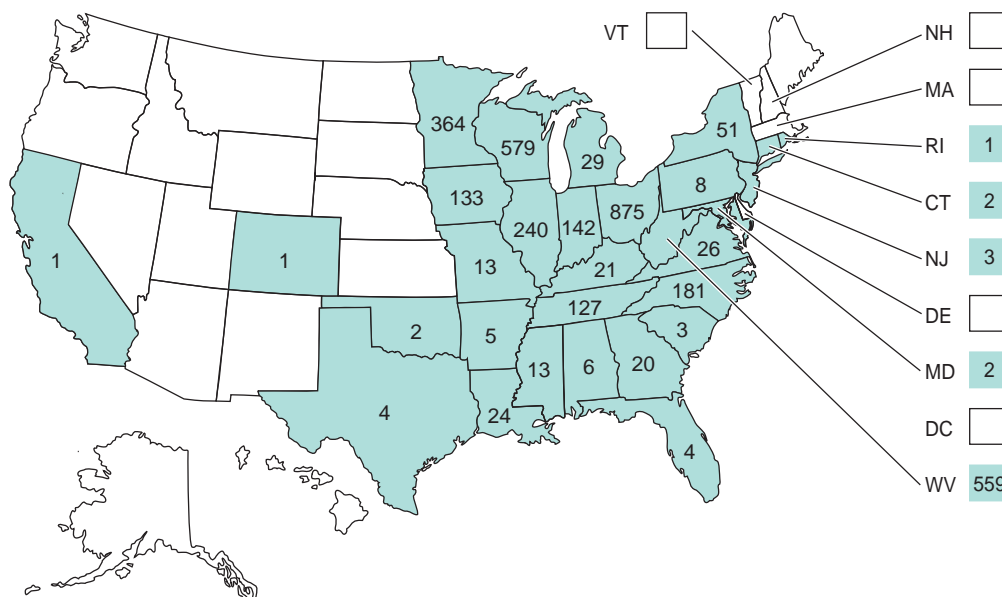



Figura 22.14 Casos de arbovírus do sorogrupo da Califórnia: 1964-2006. Essa é a encefalite por arbovírus mais comum nos Estados Unidos. A maioria dos casos nesse sorogrupo é do vírus La Crosse.

P Por que as infecções por arbovírus ocorrem durante os meses do verão?

leste dos Estados Unidos. Menos de 1% das pessoas infectadas exibe sintomas; ela pode, entretanto, ser uma doença severa com uma taxa de mortalidade em pacientes sintomáticos de cerca de 20%.

A *encefalite da Califórnia* (CE, de *California encephalitis*) foi primeiramente identificada no estado da Califórnia, Estados Unidos, porém a maioria dos casos ocorre em outros lugares. A cepa La Crosse da CE (primeiramente isolada em La Crosse, Wisconsin) é o arbovírus mais comumente encontrado (**Figura 22.14**). Uma doença relativamente branda, ela raramente é fatal.

Uma nova doença por arbovírus, agora bem conhecida, foi introduzida nos Estados Unidos em 1999. Registrada pela primeira vez na região da cidade de Nova Iorque, ela foi rapidamente identificada como sendo causada pelo *vírus do Oeste do Nilo* (WNV, de *West Nile virus*). A doença é mantida em um ciclo pássaro-mosquito-pássaro. O mosquito principal é uma espécie de *Culex*, que pode hibernar como adulto nos climas temperados. Os pássaros servem como hospedeiros amplificadores; algumas espécies, como os pardais, podem ter altos níveis de viremia sem morrer. Contudo, a mortalidade de gralhas, corvos e gralhas azuis ou gaios infectados é alta, e oficiais de saúde pública algumas vezes solicitam notificações de pássaros mortos dessas espécies. Grande parte dos casos humanos de WNV é subclínica ou branda, mas a doença pode causar uma paralisia semelhante à polio ou encefalite fatal, sobretudo em adultos mais velhos. Veja Doenças em Foco 22.2 na página 628 para um resumo das doenças causadas por arbovírus nos Estados Unidos.

O extremo oriente também apresenta encefalite por arbovírus. A **encefalite B japonesa** é a mais conhecida; ela é um problema de saúde pública grave, principalmente no Japão, na Tailândia, na Coreia, na China e no oeste da Índia. As vacinas são usadas para controlar a doença nesses países e geralmente são recomendadas para os visitantes.

A encefalite por arbovírus é diagnosticada por testes sorológicos, em geral testes de ELISA, para identificar os anticorpos IgM. A medida preventiva mais eficaz é o controle local dos mosquitos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Quando há surtos locais graves de encefalite por arbovírus, qual é o procedimento comum para minimizar sua transmissão? **22-11**

Doenças fúngicas do sistemanervoso

OBJETIVO DO APRENDIZADO

22-12 Identificar o agente causador, o reservatório, os sintomas e o tratamento da criptococose.

O SNC raramente é invadido por fungos. Entretanto, um fungo patogênico do gênero *Cryptococcus* é bem adaptado para crescer nos fluidos do SNC.

Meningite por *Cryptococcus neoformans* (criptococose)

A doença **criptococose** é causada por fungos do gênero *Cryptococcus*. Eles formam células esféricas que se assemelham às leveduras, se reproduzem por brotamento e produzem cápsulas de polissacarídeos muito espessas (**Figura 22.15**). As principais espécies patogênicas para os seres humanos são o *Cryptococcus neoformans* e o *C. grubii*. Esses organismos estão amplamente distribuídos, em especial nas áreas contaminadas por fezes de pássaros, mais particularmente pombos – que excretam cerca de 11 quilos por ano. A doença é transmitida principalmente pela inalação de fezes secas contaminadas. Os fungos inalados se multiplicam em pessoas com o sistema imune comprometido, como pacientes com Aids, se disseminam para o SNC e causam meningite, que apresenta uma alta taxa de mortalidade. Nos últimos anos, ocorreram surtos de criptococose em pacientes com Aids na Califórnia, causados por *C. gattii*, uma espécie isolada anteriormente apenas em regiões tropicais (pensava-se que a espécie tivesse um nicho ecológico limitado aos eucaliptos, mas a distribuição pode ser mais ampla). Essa espécie já foi isolada nos casos de criptococose, mesmo em pessoas sadias, em várias re-

giões do oeste da América do Norte até o extremo norte, como a Ilha de Vancouver, no Canadá.

O melhor teste diagnóstico sorológico é um teste de aglutinação no látex para detectar antígenos criptocócicos no soro ou fluido cerebrospinal. As drogas de escolha para o tratamento são a anfotericina B e a flucitosina, em combinação. Mesmo assim, a taxa de mortalidade se aproxima de 30%.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual a fonte mais comum das infecções criptocócicas transmitidas pelo ar? **22-12**

Doenças protozoóticas do sistema nervoso

OBJETIVO DO APRENDIZADO

22-13 Identificar o agente causador, o vetor, os sintomas e o tratamento da tripanossomíase africana e da meningoencefalite amébica.

Protozoários capazes de invadir o SNC são raros. Entretanto, aqueles que podem atingi-lo causam efeitos devastadores.

Tripanossomíase africana

A **tripanossomíase africana**, ou doença do sono, é uma doença parasitária que afeta o sistema nervoso. Em 1907, Winston Churchill descreveu Uganda durante uma epidemia de doença do sono como um "belo jardim da morte". Ainda hoje, estima-se que cerca de meio milhão de africanos estejam infectados, e há cerca de 100.000 novos casos relatados a cada ano.

A doença é causada por duas subespécies de *Trypanosoma brucei* que infectam seres humanos: *Trypanosoma brucei gambiense* e *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Eles são morfologicamente indistinguíveis, mas diferem de modo significativo em sua epidemiologia – isto é, em sua habilidade de infectar hospedeiros não humanos. Os seres humanos são o único reservatório significativo para o *T. b. gambiense*, enquanto o *T. b. rhodesiense* é um parasita de gado doméstico e muitos animais selvagens. Esses protozoários são flagelados (veja a Figura 23.22, a página 661, para a aparência de um organismo similar) que são disseminados por insetos vetores tsé-tsé. O *T. b. gambiense* é transmitido por uma espécie de vetor tsé-tsé que habita vegetações ciliares, onde há também concentrações de populações humanas. Essa espécie é distribuída por todo o oeste e centro da África, sendo algumas vezes denominada tripanossomíase africana do oeste. Mais que 97% dos casos registrados em seres humanos são desse tipo. Uma vez que a pessoa se torna infectada, há alguns sintomas por semanas ou meses. Finalmente, uma forma crônica da doença, com febre, cefaleias e uma variedade de outros sintomas, se desenvolve, o que indica o envolvimento e a deterioração do SNC. Coma e morte são inevitáveis sem tratamento eficaz.

Em contraste, as infecções pelo *T. b. rhodesiense* são transmitidas por espécies de moscas tsé-tsé que habitam as savanas (pastagens com árvores dispersas) do leste e do sul da África. Animais selvagens que habitam essas áreas são bem adaptados ao parasita e são pouco afetados, mas em seres humanos e animais domésticos a doença é mais grave. Isso teve um efeito profundo na África subsariana, uma região quase do tamanho dos Estados Unidos.

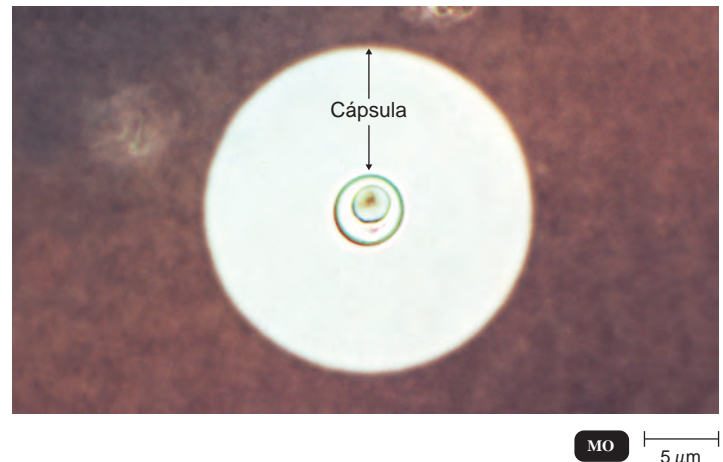



Figura 22.15 ***Cryptococcus neoformans.*** Esse fungo semelhante a uma levedura tem uma cápsula incomumente espessa. Nesta fotomicrografia, a cápsula é visível em suspensão de células em tinta nanquim diluída.

P Que doença é causada por *C. neoformans*?

O desenvolvimento agrícola foi praticamente proibido, pois o alimento produzido e os animais de trabalho se tornam infectados. As infecções de seres humanos seguem um curso mais acentuado que as causadas pelo *T. b. gambiense*; os sintomas da doença são aparentes dentro de alguns dias da infecção. Morte ocorre dentro de semanas ou alguns meses, algumas vezes por problemas cardíacos mesmo antes que o SNC seja afetado.

Há alguns agentes quimioterápicos moderadamente eficazes, como suramina e pentamidina, mas eles não alteram o curso da doença uma vez que o SNC tenha sido afetado. Entretanto, o melarsoprol, a droga que altera o curso da doença, é muito tóxico. Em 1992, uma nova droga, a eflornitina, foi introduzida. Ela cruza a barreira hematoencefálica e bloqueia uma enzima necessária para a proliferação do parasita. Ela requer uma série prolongada de injeções, mas é tão eficaz até mesmo contra os estágios avançados do *T. b. gambiense* que foi chamada de droga da ressurreição. (Sua eficácia contra *T. b. rhodesiense* é variável; melarsoprol ainda é recomendado.) A história dessa droga oferece um bom exemplo dos problemas nos serviços de saúde das regiões mais pobres do mundo. Devido ao fato de as únicas populações que sofrem de tripanossomíase africana serem incapazes de ter acesso à droga, a produção foi logo descontinuada. Felizmente, descobriu-se que a droga podia ter uso lucrativo no mundo industrial: ela reduz o crescimento de pelos faciais indesejáveis em mulheres. Dessa forma, o fabricante tem fornecido eflornitina sem nenhum custo, mas só por um tempo limitado, em muitas vilas africanas.

A abordagem principal nos dias de hoje no combate à doença é tentar eliminar o vetor, a mosca tsé-tsé. O uso de tendas, armadilhas tratadas com inseticida que mimetizam a cor e o cheiro dos hospedeiros animais do inseto, combinado com liberações em larga escala de machos esterilizados eliminou a mosca tsé-tsé na ilha de Zanzibar no mar alto. (As moscas tsé-tsé fêmeas acasalam apenas uma vez; a liberação de machos esterilizados por radiação, artificialmente criados em grandes números, impede que as fêmeas

DOENÇAS EM FOCO 22.2

Mosquito ***Culex*** **ingurgitado com sangue humano**.

Tipos de encefalites por arbovírus

A encefalite por arbovírus muitas vezes é caracterizada por febre, cefaleia e estado mental alterado, variando de confusão a coma. O controle do vetor para diminuir o contato entre os seres humanos e os mosquitos é a melhor prevenção. O controle do mosquito inclui remover água parada e usar repelentes de insetos quando estiver ao ar livre. Uma garota de oito anos na região rural de Wisconsin, Estados Unidos, apresenta calafrios, cefaleia e febre e relata ter sido picada por mosquitos. Use a tabela a seguir para determinar que tipos de encefalite são os mais prováveis. Como você confirmaria o diagnóstico?

Doença	Patógeno	Mosquito vetor	Reservatório	Distribuição nos EUA	Epidemiologia	Mortalidade
Encefalite equina ocidental	Vírus WEE (*Togavirus*)	*Culex*	Pássaros, cavalos		Várias doenças; dano neurológico frequente, em particular em lactentes	5%
Encefalite equina oriental	Vírus EEE (*Togavirus*)	*Aedes*, *Culiseta*	Pássaros, cavalos		Mais grave que WEE; afeta na maior parte crianças jovens e adultos mais jovens; relativamente incomum em seres humanos	> 30%
Encefalite de Saint Louis	Vírus SLE (*Flavivirus*)	*Culex*	Pássaros		Principalmente surtos urbanos; afeta principalmente adultos com mais de 40 anos	20%
Encefalite da Califórnia	Vírus CE (*Bunyavirus*)	*Aedes*	Pequenos mamíferos		Afeta principalmente grupos de 4 a 18 anos nas áreas rurais ou suburbanas; cepa La Crosse mais importante, do ponto de vista médico; raramente fatal; cerca de 10% apresentam dano neurológico	1% dos hospitalizados
Encefalite do Oeste do Nilo	Vírus WN (*Flavivirus*)	Principalmente *Culex*	Principalmente pássaros, vários tipos de roedores e grandes mamíferos		Maioria dos casos assintomática – do contrário, os sintomas variam de leve a grave; a probabilidade de sintomas neurológicos graves e fatalidade aumenta com a idade	4 a 18% dos hospitalizados

cruzem e produzam prole.) O inseto não consegue voar muito, e espera-se poder repetir essa erradicação em regiões selecionadas do continente.

Uma vacina está sendo desenvolvida, mas o principal obstáculo é que o tripanossomo é capaz de alterar a membrana proteica pelo menos 100 vezes, podendo assim escapar dos anticorpos des-

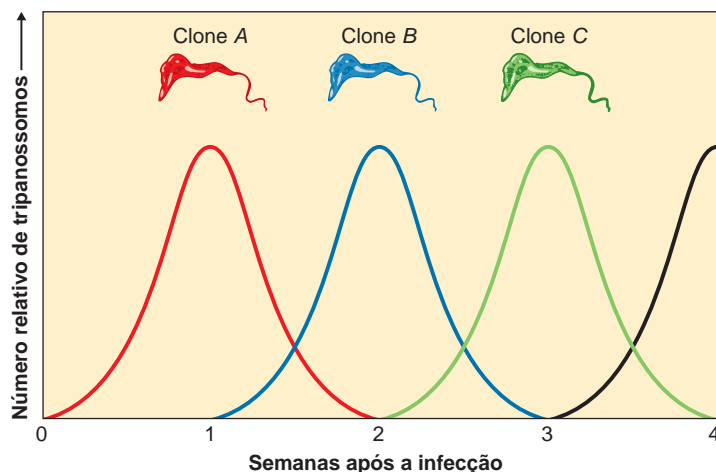



Figura 22.16 **Como os tripanossomos escapam do sistema imunológico.** A população de cada clone de tripanossomo diminui para quase zero quando o sistema imune suprime os seus membros, mas um novo clone com uma superfície antigênica diferente então substitui o clone anterior. A linha preta representa a população do clone *D*.

P **Você seria capaz de imaginar uma infecção viral causando uma pandemia mundial que produzisse uma figura semelhante?**

Figura 22.17 ***Naegleria fowleri.*** Esta foto mostra dois estágios vegetativos de *N. fowleri* começando a devorar uma ameba supostamente morta. As estruturas em forma de ventosa (chamadas de amebóstomos) funcionam na alimentação fagocítica – geralmente sobre bactérias ou debris diversos que podem incluir o tecido do hospedeiro. Esse protozoário também apresenta um estágio de cisto esférico e um estágio de ovo flagelado (muito provavelmente a forma infectiva) que permite que ele nade rapidamente em seu habitat aquático.

P **Como a meningoencefalite amebiana é transmitida?**

tinados a apenas uma ou mais de suas proteínas. Cada vez que o sistema imune do corpo é bem-sucedido em suprimir o tripanossomo, um novo clone de parasitas aparece com uma capa antigênica diferente (**Figura 22.16**).

Meningoencefalite amebiana

P&R Há duas espécies de protozoários que causam a meningoencefalite amebiana, uma doença devastadora do sistema nervoso. Esses protozoários são encontrados em águas doces recreativas. A exposição humana a esses protozoários aparentemente é comum; muitos na população portam anticorpos – felizmente, a doença sintomática é rara. *Naegleria fowleri* é um protozoário (ameba) que causa uma doença neurológica, a **meningoencefalite amebiana primária** (**PAM**, de *primary amebic meningoencephalitis*) (**Figura 22.17**). Embora casos dispersos sejam registrados em várias partes do mundo, apenas alguns casos são registrados nos Estados Unidos anualmente. As vítimas mais comuns são crianças que nadam em lagoas ou riachos. O organismo infecta inicialmente a mucosa nasal e posteriormente entra no cérebro e prolifera se alimentando do tecido cerebral. A taxa de fatalidade é de quase 100%, com morte ocorrendo dentro de poucos dias do aparecimento dos sintomas. O diagnóstico tipicamente é feito na autópsia. Os poucos sobreviventes conhecidos foram tratados com a droga antifúngica anfotericina B.

Uma doença neurológica similar é a **encefalite amebiana granulomatosa** (**GAE**, de *granulomatous amebic encephalitis*). A GAE é causada por uma espécie de *Acanthamoeba*, mas não a mesma que causa a ceratite por *Acanthamoeba*, uma doença grave que afeta os olhos. Ela é crônica, lentamente progressiva e fatal em questão de meses ou semanas. A GAE tem um período de incubação desconhecido, e meses podem transcorrer antes que os sintomas apareçam. Os granulomas (veja a Figura 23.28, página 668) se formam ao redor do organismo em resposta a uma reação imune. A porta de entrada não é conhecida, mas provavelmente seja através das membranas mucosas. Múltiplas lesões são formadas no cérebro e em outros órgãos, em particular nos pulmões. É provável que muitos casos de GAE atribuídos a *Acanthamoeba* tenham sido na verdade causados por outro protozoário similar, *Balamuthia mandrillaris*, registrado pela primeira vez em um babuíno mandril em 1989.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que inseto é o vetor da tripanossomíase africana? **22-13**

Doenças do sistema nervoso causadas por prions

OBJETIVO DO APRENDIZADO

22-14 Listar as características das doenças causadas por prions.

Várias doenças fatais que afetam o SNC humano são causadas por prions. Para explicar o termo *prion*, precisamos recordar a discussão sobre as enzimas no Capítulo 5 de que a forma do componente proteico da enzima é essencial para seu funcionamento. Uma determinada proteína normalmente é encontrada na superfície dos neurônios do cérebro, podendo até mesmo ser encontrada na su-

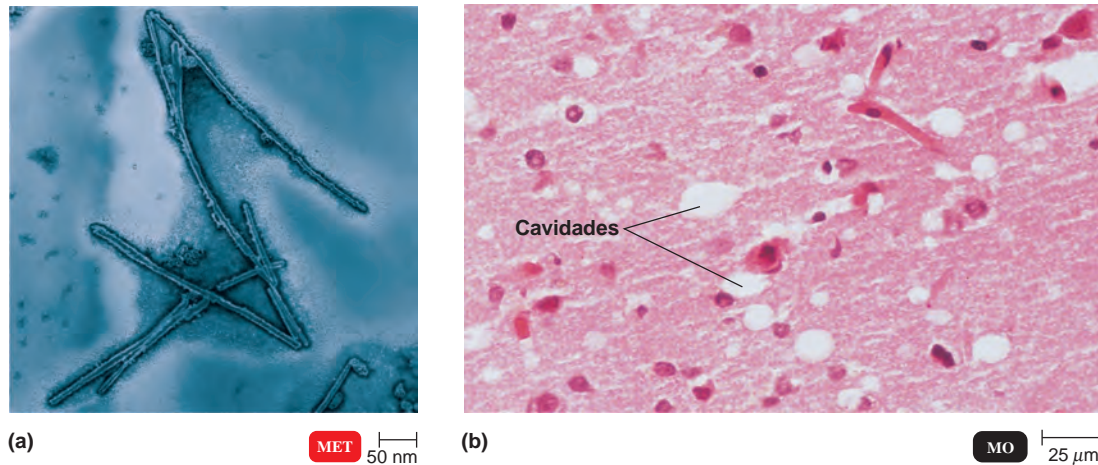



Figura 22.18 **Encefalopatias espongiformes.** Essas doenças, causadas por prions, incluem a encefalopatia espongiforme bovina, o *scrapie* das ovelhas e a doença de Creutzfeldt-Jakob em seres humanos. Todas são similares em suas patologias. **(a)** Tecido cerebral mostrando as fibrilas características produzidas pelas doenças por prion. Essas fibrilas são agregados insolúveis de proteínas dobradas inadequadamente (prions). Prions individuais não são visíveis por qualquer tecnologia conhecida. **(b)** Tecido cerebral mostrando as cavidades claras responsáveis pela aparência espongiforme.

P **O que são prions?**

perfície de certas células-tronco na medula óssea e de células que se tornam neurônios; vamos chamá-la de *proteína normal*. Sua função é desconhecida, mas há evidências de que ela pode coordenar a maturação de células nervosas. Certamente, a forma da proteína não causa dano. Porém, essa proteína pode assumir duas formas de dobramento, uma normal e outra inadequada (não há mudança na sequência de aminoácidos). Se a proteína normal encontra uma *proteína dobrada inadequadamente*, um **prion**, a proteína normal muda sua forma e também se torna dobrada de modo inadequado – isto é, outro prion. Na realidade, ocorre uma reação em cadeia de dobramento inadequado da proteína. Portanto, um único prion infectivo pode levar a uma cascata de novos prions, que então se agrupam para formar agregados de fibrilas de proteínas dobradas inadequadamente que são encontradas em cérebros doentes. Veja a **Figura 22.18a**. Autópsias desse tecido do cérebro infectado também mostram que ele exibe uma degeneração espongiforme característica (porosa, como uma esponja), como mostrado na **Figura 22.18b**. (Veja também a discussão sobre prions no Capítulo 13, página 392, e a Figura 13.22). Nos últimos anos, o estudo dessas doenças, chamadas de **encefalopatias esponfigormes transmissíveis** (**TSEs**, de *transmissible spongiform encephalopathies*), tem sido uma das áreas de maior interesse da microbiologia médica.

Uma doença causada por prion típica em animais é o **scrapie em ovelhas**, que é conhecida a muito tempo na Grã-Bretanha e apareceu pela primeira vez nos Estados Unidos em 1947. O animal infectado esfrega-se contra cercas e paredes até que regiões de seu corpo fiquem em carne viva. Durante um período de várias semanas ou meses, o animal gradualmente perde controle motor e morre. A infecção pode ser experimentalmente passada para outros animais pela injeção de tecido cerebral de um animal para outro. Condições similares são observadas em martas, possivelmente como resultado dos animais serem alimentados com carne de carneiro. Uma doença por prion, a *doença debilitante crônica*, afeta veados e alces selvagens no oeste dos Estados Unidos e do Canadá. Ela é invariavelmente fatal, e há preocupação de que possa infectar seres humanos que comem carne de veado e eventualmente infectar o gado doméstico.

Os seres humanos sofrem de doenças TSE similares ao *scrapie*; a **doença de Creutzfeldt-Jakob** (**CJD**, de *Creutzfeldt-Jakob disease*) é um exemplo. A CJD é rara (cerca de 200 casos por ano nos Estados Unidos). Ela geralmente ocorre em famílias, uma indicação de um componente genético. Essa forma de CJD algumas vezes é referida como CJD clássica, para diferenciá-la das variantes similares que já surgiram. Não há dúvidas de que um agente infeccioso esteja envolvido, pois a transmissão via transplantes de córnea e cortes acidentais do cirurgião com bisturi durante uma autópsia foi registrada. Vários casos foram rastreados até a injeção de um hormônio do crescimento derivado de tecido humano. Fervura e irradiação não têm efeito, e até mesmo autoclave rotineira não é confiável. Isso tem levado a sugestões para que os cirurgiões utilizem instrumentos descartáveis onde houver o risco de exposição à CJD. Para esterilizar instrumentos reutilizáveis, a Organização Mundial de Saúde recomenda atualmente uma solução concentrada de hidróxido de sódio combinada com autoclave prolongada a 134°C. Entretanto, há registros de que aplicações de um simples detergente de limpeza combinado com enzimas proteases para desfazer os prions podem ser uma solução eficaz para o problema. Uma abordagem similar para o descarte das carcaças de animais infectados por prion, para o qual a incineração é o principal método hoje, faz uso da digestão. O tanque digestor mostrado na **Figura 22.19** está em uso no Laboratório de Diagnóstico Veterinário de Wisconsin, Estados Unidos, para descartar as carcaças de veados suspeitos de infecção com a doença debilitante crônica causada por prions (a incineração era utilizada anteriormente para essa finalidade). O tecido animal é submetido ao calor e a substân-

cias químicas cáusticas como o hidróxido de sódio ou o hidróxido de potássio. O tecido animal e quaisquer micro-organismos são reduzidos a um caldo inofensivo contendo apenas açúcares e pequenas cadeias peptídicas, que podem ser descartados no sistema de esgoto sanitário municipal. Esse processo é menos caro que a incineração, assim como mais favorável ao meio ambiente.

Algumas tribos na Nova Guiné sofreram de uma doença TSE chamada de **kuru** (uma palavra nativa para chacoalhar ou tremer). A transmissão do kuru aparentemente está relacionada à prática de rituais de canibalismo. Carleton Gajdusek recebeu o prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina em 1976 por sua investigação sobre o kuru. A doença está desaparecendo à medida que a prática de rituais de canibalismo se extingue.

Encefalopatia espongiforme bovina e doença de Creutzfeldt-Jakob variante

Uma TSE que com frequência está nos noticiários é a **encefalopatia espongiforme bovina** (**BSE**, de *bovine spongiform encephalopathy*). A doença é mais conhecida como *doença da vaca louca* devido ao comportamento dos animais. O surto que começou em 1986 na Grã-Bretanha foi finalmente controlado pelo sacrifício dos rebanhos. A origem da doença geralmente é atribuída aos suplementos alimentares contaminados com prions de carneiros infectados com *scrapie*, uma doença neurológica de endemia prolongada. À medida que o gado se adaptou ao *scrapie*, começou a exibir os sintomas de BSE. Outra hipótese propõe que a BSE tenha resultado de uma mutação espontânea em uma vaca e que não há conexão com o *scrapie*.

Existe uma necessidade urgente por testes confiáveis que diagnostiquem casos de BSE nos estágios iniciais assintomáticos nos animais vivos. Atualmente, os únicos testes disponíveis requerem tecido cerebral após a morte e detectam apenas os estágios avançados da doença. Na tentativa de impedir a introdução da BSE nos Estados Unidos, existem regras proibindo a utilização de carne de animais debilitados (caídos e incapazes de se levantar e caminhar) para qualquer finalidade e o uso de proteína animal como suplemento alimentar. A FDA proibiu o consumo humano de determinadas partes da carne de gado que são mais prováveis de conter um patógeno neurológico. Também, apenas uma pequena porcentagem dos animais nos Estados Unidos é testada para BSE – na Europa e no Japão, praticamente todos os animais abatidos são testados.

Figura 22.19 **Digestor de tecido.** **(a)** A foto menor mostra o tanque de aço inoxidável do digestor de tecido, que pode ser usado para reduzir animais infectados por prion a um chorume não infeccioso. **(b)** Técnico colocando uma ovelha infectada com prion no digestor.

P **O cozimento ou o congelamento destrói os prions?**

Se essa doença se estabelecesse no gado doméstico nos Estados Unidos, seria economicamente devastadora. Entretanto, há outro aspecto – que a doença poderia ser transmitida para os seres humanos. Na Grã-Bretanha e em alguns outros lugares, alguns casos de aparente CJD clássica apareceram em seres humanos relativamente jovens. A CJD raramente ocorre em grupos dessa idade, e teme-se que haja uma conexão com a BSE. As investigações mostraram que essa variante de CJD (vCJD) diferia de maneira significativa da CJD clássica (Tabela 22.1). Menos de 200 casos foram identificados até hoje. Considerando os longos períodos de incubação das doenças por prion e que cerca de um milhão de bovinos foram infectados com a BSE, há uma perturbadora possibilidade de que grandes números de casos de vCJD ainda possam aparecer. Entretanto, essa preocupação atualmente já não é mais tão grande, tendo em vista a diminuição do número de casos de um pequeno pico em 2000 e a descobreta de que os pacientes afetados compartilham certo perfil genético limitado.

Tabela 22.1 Características comparativas das doenças de Creutzfeldt-Jakob clássica e variante

Característica	CJD Clássica	CJD Variante
Idade média na morte (anos)	68 (faixa de 23 a 97)	28 (faixa de 14 a 74)
Duração média da doença (meses)	4 a 5	13 a 14
Apresentação clínica	Demência; sinais neurológicos precoces	Sintomas psiquiátricos e comportamentais proeminentes; sinais neurológicos tardios
Genótipo*	Outras combinações de aminoácidos	Metionina/metionina

*As vítimas são homozigotos no códon 129, isto é, seus genes PrP (um do pai e um da mãe) têm a metionina codificada nessa posição. Essa é uma característica de apenas 37% dos caucasianos. Outros membros dessa população apresentam diferentes combinações de aminoácidos nessa posição – e, embora alguns casos que apareceram sejam uma exceção (homozigoto valina/valina, ou heterozigoto metionina/valina), ninguém com esses genótipos contraiu a vCJD até hoje.

DOENÇAS EM FOCO 22.3

Coloração de Gram do feijão cozido enlatado.

MO 10 μm

Doenças microbianas com sintomas neurológicos ou paralisia

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Por exemplo, depois de comerem feijão cozido enlatado, duas crianças apresentaram paralisia do nervo cranial seguida de paralisia decrescente. Elas estão sob ventilação mecânica. As sobras de feijão foram testadas por bioensaio em camundongos. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Sintomas	Método de transmissão	Tratamento	Prevenção
DOENÇAS BACTERIANAS					
Tétano	*Clostridium tetani*	Trismo; espasmos musculares	Ferimento com perfuração	Soro antitetânico; antibióticos	Vacina toxoide (DTaP, Td)
Botulismo	*Clostridium botulinum*	Paralisia flácida	Intoxicação de origem alimentar	Antitoxina	Conservas adequadas dos alimentos; lactentes não devem ingerir mel
Lepra	*Mycobacterium leprae*	Perda de sensação na pele; nódulos desfigurantes	Provavelmente contato prolongado com secreções contaminadas	Dapsona, rifampina, clofaximina	Possivelmente vacina BCG
DOENÇAS VIRAIS					
Poliomielite	Poliovírus	Cefaleia, dor de garganta, rigidez na nuca; paralisia se os nervos motores forem infectados	Ingestão de água contaminada (via oro-fecal)	Auxílio por respiração mecânica	Vacina pólio inativada (E--IPV)
Raiva	*Lyssavirus*, incluindo o vírus da raiva	Infecção fatal; os sintomas precoces incluem agitação, espasmos musculares, dificuldade de engolir	Mordida animal	Tratamento pós-exposição: soro antirrábico mais vacina	Vacina de célula diploide humana para pessoas de alto-risco; vacinação de animais domésticos
DOENÇAS PARASITÁRIAS					
Tripanossomíase africana	*Trypanosoma brucei rhodesiense*; *T. b. gambiense*	Infecção fatal; os sintomas precoces (cefaleia, febre) progridem para o coma	Mosca tsé-tsé	Suramina; pentamidina	Controle do vetor
DOENÇAS POR PRION					
Doença de Creutzfeldt-Jakob	Prion	Infecção fatal; os sintomas neurológicos incluem tremor	Hereditário; injestão; transplantes	Nenhum	Nenhuma
Kuru	Prion	Os mesmos da doença de Creutzfeldt-Jakob	Contato ou ingestão	Nenhum	Nenhuma

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são as recomendações para esterilizar instrumentos cirúrgicos reutilizáveis quando a contaminação por prion pode ser um fator? **22-14**

Doenças causadas por agentes não identificados

OBJETIVO DO APRENDIZADO

22-15 Listar algumas causas possíveis da síndrome da fadiga crônica.

Síndrome da fadiga crônica

A comunidade médica há tempos está intrigada com os pacientes que reclamam de fadiga persistente que os impede de trabalhar e não tem causa aparente. Muitas vezes eles também reclamam de múltiplas alergias. Chamada de **síndrome da fadiga crônica** (**CFS**, de *chronic fatigue syndrome*), a condição debilitante se estende por meses ou anos. Por muitos anos, a condição foi repudiada como uma reclamação de pessoas que estavam deprimidas ou simplesmente reclamando de sintomas triviais. Pesquisas recentes sobre a CFS, entretanto, sugerem que não está "tudo na cabeça", mas que a doença está fortemente ligada ao sistema imune e pode apresentar um componente genético. Existe atualmente um nome alternativo mais impressionante, *encefalomielite miálgica* (ME, de *myalgic encephalomyelitis*). Pessoas que reclamam de CFS geralmente não se adaptam bem ao estresse diário e não respondem de modo adequado ao combate de infecções. A CFS em geral inicia como uma doença parecida com a gripe e que nunca vai embora. Alguns acham que ela é disparada por uma doença viral, como mononucleose infecciosa (causada pelo vírus Epstein-Barr), febre Q, doença de Lyme, entre outras.

O CDC desenvolveu uma definição de diagnóstico para a CFS: uma fadiga persistente, sem explicação, que dura pelo menos seis meses. O paciente deve também exibir pelo menos quatro dos sintomas de uma lista, incluindo dor de garganta, linfonodos doloridos, dores musculares, dores nas articulações, cefaleia, sono não reparador, indisposição depois de exercícios físicos, memória de curto prazo ou concentração prejudicada. A condição não é incomum nos Estados Unidos; a prevalência é de 0,52% nas mulheres e 0,29% nos homens, totalizando estimados 800.000 a 2,5 milhões de pessoas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Dê o nome de uma doença comum que pode estar associada com a síndrome da fadiga crônica. **22-15**

* * *

Doenças em Foco 22.3 resume as principais causas de doenças microbianas envolvendo sintomas neurológicos e paralisia.

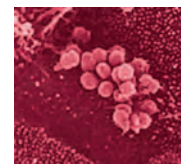
RESUMO PARA ESTUDO

Estrutura e função do sistema nervoso (p. 611)

1. O sistema nervoso central (SNC) é constituído pelo cérebro, protegido pelo osso craniano, e pela medula espinal, protegida pelos ossos vertebrais.
2. O sistema nervoso periférico (SNP) é constituído por nervos que se ramificam do SNC.
3. O SNC é recoberto por três camadas de membranas chamadas de meninges: a dura máter, a aracnoide máter e a pia máter. O fluido cerebrospinal (CSF) circula entre a aracnoide máter e a pia máter no espaço subaracnoide.
4. A barreira hematoencefálica normalmente impede que muitas substâncias, inclusive anticorpos, entrem no cérebro.
5. Os micro-organismos podem entrar no SNC por trauma, ao longo dos nervos periféricos, e através da corrente sanguínea e do sistema linfático.
6. Uma infecção das meninges é chamada de meningite. Uma infecção do cérebro é chamada de encefalite.

Doenças bacterianas do sistema nervoso (p. 611-620)

Meningite bacteriana (p. 612-615)

1. A meningite pode ser causada por vírus, bactérias, fungos e protozoários.
2. As três principais causas da meningite bacteriana são *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* e *Neisseria meningitidis*.
3. Quase 50 espécies de bactérias oportunistas podem causar meningite.

Meningite por *Haemophilus influenzae* (p. 613)

4. *H. influenzae* faz parte da microbiota normal da garganta.
5. *H. influenzae* requer fatores sanguíneos para crescer; os sorotipos são baseados nas cápsulas.
6. *H. influenzae* tipo b é a causa mais comum de meningite em crianças com menos de 4 anos.
7. Uma vacina conjugada direcionada contra o antígeno polissacarídico capsular está disponível.

Meningite por *Neisseria meningitidis (meningite meningocócica)* (p. 613)

8. *N. meningitidis* causa meningite meningocócica. Essa bactéria é encontrada na garganta de portadores sadios.

9. As bactérias provavelmente ganham acesso às meninges através da corrente sanguínea. Elas podem ser encontradas em leucócitos no CSF.
10. Os sintomas ocorrem devido à endotoxina. A doença é mais frequente em crianças.
11. Vacina de polissacarídeo capsular purificado contra os sorotipos A, C, Y e W-135 está disponível.

Meningite por *Streptococcus pneumoniae* (meningite pneumocócica) (p. 614)

12. *S. pneumoniae* é comumente encontrado na nasofaringe.
13. As crianças são mais suscetíveis à meningite por *S. pneumoniae*. Não tratada, ela apresenta uma alta taxa de mortalidade.
14. Uma vacina conjugada está disponível.

Diagnóstico e tratamento dos tipos mais comuns de meningite bacteriana (p. 614)

15. O diagnóstico tem como base coloração de Gram, culturas e testes sorológicos das bactérias no CSF.
16. Cefalosporinas podem ser administradas antes que o patógeno seja identificado.

Listeriose (p. 614, 615)

17. *Listeria monocytogenes* causa meningite em recém-nascidos, imunossuprimidos, mulheres grávidas e pacientes com câncer.
18. Adquirida por ingestão de alimento contaminado, ela pode ser assintomática em adultos sadios.
19. *L. monocytogenes* pode cruzar a placenta e causar aborto espontâneo e natimorte.

Tétano (p. 615, 616)

20. O tétano é causado por *Clostridium tetani* em uma infecção localizada de um ferimento.
21. O *C. tetani* produz a neurotoxina tetanospasmina, que causa os sintomas do tétano: espasmos, contração dos músculos que controlam a mandíbula e morte resultante dos espasmos dos músculos respiratórios.
22. O *C. tetani* é um anaeróbico que cresce em ferimentos profundos sujos.
23. A imunidade adquirida resulta da imunização com DTaP.
24. Após uma lesão, uma pessoa imunizada pode receber um reforço do toxoide tetânico. Uma pessoa não imunizada pode receber soro (humano) antitetânico.
25. Debridamento (remoção de tecido) e antibióticos podem ser usados para controlar a infecção.

Botulismo (p. 616-619)

26. O botulismo é causado por uma endotoxina produzida pelo *C. botulinum* crescendo em alimentos.
27. Os tipos sorológicos da toxina botulínica variam em virulência, sendo o tipo A o mais virulento.
28. A toxina é uma neurotoxina que inibe a transmissão dos impulsos nervosos.
29. Visão turva ocorre em 1 a 2 dias; paralisia facial progressiva segue em 1 a 10 dias, possivelmente resultando em morte por insuficiência cardíaca e respiratória.
30. O *C. botulinum* não cresce em alimentos ácidos ou em ambiente aeróbico.
31. Os endosporos são mortos por preparação adequada de enlatados e conservas. A adição de nitritos aos alimentos inibe o crescimento de *C. botulinum*.
32. A toxina é termolábil, sendo destruída por fervura (100°C) por cinco minutos.
33. Botulismo infantil resulta do crescimento de *C. botulinum* no intestino do bebê.
34. Botulismo por ferimento ocorre quando o *C. botulinum* cresce em ferimentos anaeróbicos.
35. Para diagnóstico, camundongos protegidos com a antitoxina são inoculados com a toxina do paciente ou dos alimentos.

Lepra (p. 619, 620)

36. *Mycobacterium leprae* causa lepra, ou hanseníase.
37. O *M. leprae* nunca foi cultivado em meio artificial, podendo ser cultivado em tatus e nas patas de camundongos.
38. A forma tuberculoide da doença é caracterizada pela perda de sensação na pele circundada por nódulos.
39. Na forma lepromatosa, ocorrem nódulos disseminados e necrose tecidual.
40. A lepra não é altamente contagiosa, sendo transmitida pelo contato prolongado com exsudatos.
41. Pessoas não tratadas geralmente morrem de complicações bacterianas secundárias como a tuberculose.
42. O diagnóstico laboratorial tem como base a observação de bacilos ácido-resistentes em uma biópsia de pele.
43. Pacientes com lepra são tratados com drogas sulfonas.

Doenças virais do sistema nervoso (p.620-626)

Poliomielite (p. 620-622)

1. Os sintomas da poliomielite geralmente são dor de garganta e náusea, podendo também ocorrer paralisia (menos de 1% dos casos).
2. O poliovírus é transmitido pela ingestão de água contaminada com fezes.
3. O poliovírus primeiramente invade os linfonodos do pescoço e do intestino delgado. Viremia e envolvimento da medula espinal podem se seguir.
4. O diagnóstico tem como base o isolamento do vírus das fezes e das secreções da garganta.
5. A vacina Salk (uma vacina da pólio inativada) envolve a injeção de vírus inativados com formalina e reforço dentro de alguns anos. A vacina Sabin (uma vacina da pólio oral) contém três cepas vivas atenuadas de poliovírus e é administrada oralmente.
6. A pólio será eliminada por meio da vacinação.

Raiva (p. 622-624)

7. O vírus da raiva (*Lyssavirus*) causa uma encefalite aguda, geralmente fatal, chamada de raiva.
8. A raiva pode ser contraída através da mordida de um animal raivoso ou da invasão da pele. O vírus se multiplica no músculo esquelético e no tecido conjuntivo.
9. A encefalite ocorre quando o vírus se move ao longo dos nervos periféricos para o SNC.
10. Os sintomas da raiva incluem espasmos dos músculos da boca e garganta seguidos por dano extenso ao cérebro e à medula espinal e morte.
11. O diagnóstico laboratorial pode ser feito por testes DFA da saliva, do soro e do CSF ou esfregaços do cérebro.
12. Os reservatórios da raiva nos Estados Unidos incluem gambás, morcegos, raposas e guaxinins. Gado doméstico, cães e gatos podem contrair raiva. Roedores e coelhos raramente contraem a doença.

13. O tratamento pós-exposição inclui a administração de soro imune humano antirrábico (RIG) juntamente com múltiplas injeções intramusculares da vacina.
14. O tratamento pré-exposição consiste em vacinação.
15. Outros genótipos de *Lyssavirus* causam doenças semelhantes à raiva.

Encefalite por arbovírus (p. 624-626)

16. Os sintomas da encefalite são calafrios, cefaleia, febre e finalmente coma.
17. Muitos tipos de vírus (chamados de arbovírus) transmitidos por mosquitos causam encefalite.
18. A incidência de encefalite por arbovírus aumenta nos meses do verão, quando os mosquitos são mais numerosos.
19. Infecções por arbovírus que devem ser relatadas são encefalite equina oriental (EEE), encefalite equina ocidental (WEE), encefalite de Saint Louis (SLE), encefalite da Califórnia (CE) e vírus do oeste do Nilo (WNV).
20. O diagnóstico tem como base os testes sorológicos.
21. O controle do mosquito vetor é o modo mais eficaz de controlar a encefalite.

Doenças fúngicas do sistema nervoso (p. 626, 627)

Meningite por *Cryptococcus neoformans* (criptococose) (p. 626, 627)

1. *Cryptococcus* spp. são fungos semelhantes a leveduras que causam criptococose.
2. A doença pode ser contraída pela inalação de fezes secas infectadas de pombos ou galinhas.
3. A doença começa como uma infecção pulmonar e pode se espalhar para o cérebro e as meninges.
4. Pessoas imunossuprimidas são mais suscetíveis à criptococose.
5. O diagnóstico tem como base os testes de aglutinação por látex para os antígenos criptocócicos no soro ou no CSF.

Doenças protozoóticas do sistema nervoso (p. 627-629)

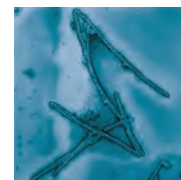
Tripanossomíase africana (p. 627-629)

1. A tripanossomíase africana é causada pelos protozoários *Trypanosoma brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense* e é transmitida pela picada da mosca tsé-tsé.
2. A doença afeta o sistema nervoso do hospedeiro humano, causando letargia e finalmente coma. Ela é comumente chamada de doença do sono.
3. O desenvolvimento da vacina é dificultado pela capacidade do parasita de alterar seus antígenos de superfície.

Meningoencefalite amebiana (p. 629)

4. A encefalite causada pelo protozoário *Naegleria fowleri* é quase sempre fatal.
5. A encefalite granulomatosa amebiana, causada por *Acanthamoeba* spp. e *Balamuthia mandrillaris*, é uma doença crônica.

Doenças do sistema nervoso causadas por prions (p. 629-633)

1. Prions são proteínas autorreplicativas sem ácido nucleico detectável.
2. As doenças do SNC que progridem lentamente e causam degeneração espongiforme são causadas por prions.
3. As encefalopatias espongiformes transmissíveis são causadas por prions que são transferíveis de um animal para outro.
4. A doença de Creutzfeldt-Jakob e o kuru são doenças humanas similares ao *scrapie*. Elas são transmitidas entre os seres humanos.

Doenças causadas por agentes não identificados (p. 633)

Síndrome da fadiga crônica (p. 633)

1. A síndrome da fadiga crônica (CFS) pode ser disparada por uma infecção microbiana.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas*, deste livro.

Revisão

1. Se *Clostridium tetani* é relativamente sensível à penicilina, por que a penicilina não cura o tétano?
2. Que tratamento é utilizado contra o tétano nas seguintes condições?
   a. Antes de uma pessoa sofrer um ferimento por perfuração profunda.
   b. Depois de uma pessoa sofrer um ferimento por perfuração profunda.
3. Por que a descrição a seguir é usada para ferimentos que são suscetíveis à infecção por *C. tetani*: "ferimentos por perfuração profunda inadequadamente limpos... aqueles com pouco ou nenhum sangramento"?
4. Forneça as seguintes informações sobre a poliomielite: etiologia, método de transmissão, sintomas, prevenção. Por que as vacinas Salk e Sabin não são consideradas tratamentos para a poliomielite?
5. Preencha a tabela a seguir.

Agente causador da meningite	População suscetível	Transmissão	Tratamento
N. meningitidis			
H. influenzae			
S. pneumoniae			
L. monocytogenes			
C. neoformans			

6. **DESENHE** Na figura abaixo, identifique a porta de entrada de *H. influenzae*, *C. tetani*, toxina botulínica, *M. leprae*, poliovírus, *Lyssavirus*, arbovírus e *Acanthamoeba*.

7. Identifique os procedimentos para tratar a raiva após exposição. Faça um esboço dos procedimentos para prevenir a doença antes da exposição. Qual a razão para as diferenças entre os procedimentos?
8. Preencha a tabela a seguir.

Doença	Etiologia	Transmissão	Sintomas	Tratamento
Encefalite por arbovírus				
Tripanossomíase africana				
Botulismo				
Lepra				

9. Forneça evidências de que a doença de Creutzfeldt-Jakob é causada por um agente transmissível.

Múltipla escolha

1. Qual das seguintes alternativas *não* é verdadeira?
   a. Apenas ferimentos por perfurações com pregos enferrujados resultam em tétano.
   b. A raiva raramente é encontrada em roedores (p. ex., ratos, camundongos).
   c. A pólio é transmitida pela via oro-fecal.
   d. A encefalite por arbovírus é muito comum nos Estados Unidos.
   e. Todas são verdadeiras.
2. Qual dos seguintes *não* tem um reservatório animal ou vetor?
   a. Listeriose.
   b. Criptococose.
   c. Meningoencefalite amebiana.
   d. Raiva.
   e. Tripanossomíase africana.
3. Uma garota de 12 anos hospitalizada por síndrome de Guillain-Barré exibiu uma história de quatro dias de cefaleia, tonturas, febre, dor de garganta e fraqueza nas pernas. As convulsões começaram duas semanas depois. As culturas bacterianas foram negativas. Ela morreu três semanas após a hospitalização. Uma autópsia revelou inclusões nas células cerebrais, que foram positivas em um teste de imunofluorescência. Ela provavelmente tinha
   a. Raiva.
   b. Doença de Creutzfeldt-Jakob.
   c. Botulismo.
   d. Tétano.
   e. Lepra.
4. Após receber um transplante de córnea, uma mulher desenvolveu demência e perda da função motora; ela então entrou em coma e morreu. As culturas foram negativas. Os testes sorológicos foram negativos. A autópsia revelou degeneração espongiforme cerebral. Ela muito provavelmente tinha
   a. Raiva.
   b. Doença de Creutzfeldt-Jakob.
   c. Botulismo.
   d. Tétano.
   e. Lepra.
5. A endotoxina é responsável por sintomas causados por qual dos seguintes organismos?
   a. *N. meningitidis.*
   b. *S. pyogenes.*
   c. *L. monocytogenes.*
   d. *C. tetani.*
   e. *C. botulinum.*
6. O aumento da incidência de encefalite nos meses de verão é devido a
   a. Maturação dos vírus.
   b. Aumento da temperatura.
   c. Presença de mosquitos adultos.
   d. Aumento da população de pássaros.
   e. Aumento da população de cavalos.

Combine as seguintes opções com as frases nas questões 7 e 8:
   a. Anticorpos antirrábicos.
   b. HDCV.

7. Produz o maior título de anticorpos.
8. Usado para imunização passiva.

Use as opções a seguir para responder as questões 9 e 10:
   a. *Cryptococcus.*
   b. *Haemophilus.*
   c. *Listeria.*
   d. *Naegleria.*
   e. *Neisseria.*

9. Exame microscópico do fluido cerebrospinal revela bacilos gram-positivos.
10. Exame microscópico do fluido cerebrospinal de uma pessoa que lava janelas em um edifício de uma grande cidade revela células ovoides.

Pensamento crítico

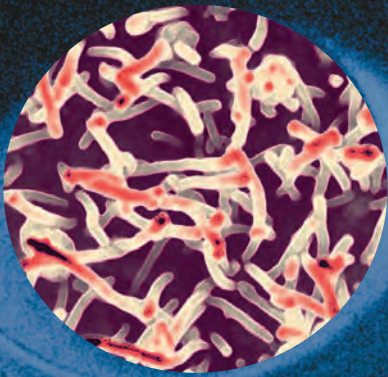
1. A maioria de nós aprendeu que um prego enferrujado causa tétano. Qual a origem dessa crença popular?
2. OPV não é mais utilizada para vacinação de rotina. Forneça o motivo para essa determinação.

Aplicações clínicas

1. Um bebê de um ano ficou letárgico e teve febre. Quando admitido no hospital, apresentava múltiplos abscessos cerebrais com cocobacilos gram-negativos. Identifique a doença, a etiologia e o tratamento.
2. Um criador de pássaros de 40 anos foi admitido no hospital com dor na mandíbula superior, perda progressiva da visão e disfunção da bexiga. Ele estava bem dois meses antes. Dentro de semanas, ele perdeu os reflexos das extremidades inferiores e posteriormente morreu. O exame de CSF revelou linfócitos. De que etiologia você suspeita? De que outras informações você precisa?
3. Uma semana depois de nadar em uma fonte termal, uma garota de nove anos foi hospitalizada com história de três dias de fortes dores de cabeça, náusea, letargia e estupor progressivos. O exame de CSF revelou organismos ameboides. Identifique a doença, a etiologia e o tratamento.

23 Doenças Microbianas dos Sistemas Cardiovascular e Linfático

O **sistema cardiovascular** consiste em coração, sangue e vasos sanguíneos. O **sistema linfático** consiste em linfa, vasos linfáticos, linfonodos e órgãos linfoides, como tonsilas, apêndice, baço e timo. Os fluidos em ambos os sistemas circulam por todo o corpo, contactando intimamente muitos tecidos e órgãos. Do ponto de vista fisiológico, o sangue e a linfa distribuem os nutrientes e o oxigênio para os tecidos corporais e levam embora os resíduos. Entretanto, essas mesmas qualidades fazem dos sistemas cardiovascular e linfático veículos para a disseminação dos patógenos que entram em sua circulação quando uma picada de inseto, uma agulha ou um ferimento penetram a pele. Por causa disso, muitos dos sistemas de defesa inata do corpo são encontrados no sangue e na linfa. Muito importantes são as células fagocitárias circulantes; elas também estão em locais fixos como os linfonodos e o baço. O sangue é uma parte importante do sistema imune adaptativo; anticorpos e células especializadas circulam para interceptar patógenos introduzidos no sangue.

Entretanto, algumas vezes os sistemas defensivos encontrados no sangue são desarmados e então os patógenos proliferam, com resultados desastrosos.

SOB O MICROSCÓPIO
Vírus Ebola. Causa de uma das febres hemorrágicas virais emergentes no mundo.

P&R

Embora as febres hemorrágicas estejam quase que inteiramente limitadas à África tropical, elas têm atraído muita atenção devido a sua taxa de mortalidade e aos sintomas devastadores. Que sintomas são esses?

Procure pela resposta neste capítulo.

Estrutura e função dos sistemas cardiovascular e linfático

OBJETIVO DO APRENDIZADO

23-1 Identificar o papel dos sistemas cardiovascular e linfático na disseminação e na eliminação das infecções.

O centro do sistema cardiovascular é o coração (**Figura 23.1**). A função desse sistema é fazer o sangue circular através dos tecidos do corpo de modo que possa entregar certas substâncias às células e remover outras substâncias delas.

O *sangue* é uma mistura de elementos formados e um líquido chamado de plasma sanguíneo (veja o quadro no Capítulo 16, página 467). O sistema linfático é uma parte essencial da circulação do sangue (**Figura 23.2**). Quando o sangue circula, parte do plasma é filtrada dos capilares sanguíneos para dentro dos espaços entre as células do tecido, chamados de *espaços intersticiais*. O fluido circulante é chamado de *fluido intersticial*. Vasos linfáticos microscópicos que circundam as células teciduais são chamados de *capilares linfáticos*. Quando o fluido intersticial se move ao redor das células do tecido, ele é capturado pelos capilares linfáticos; o fluido é então chamado de *linfa*.

Uma vez que os capilares linfáticos são muito permeáveis, eles prontamente capturam os micro-organismos ou seus produtos. Dos capilares linfáticos, a linfa é transportada para dentro de vasos linfáticos maiores, chamados de *linfáticos*, que contêm válvulas que mantêm a linfa se movendo em direção ao coração. Finalmente, toda a linfa retorna ao sangue logo antes de ele entrar no coração. Como resultado dessa circulação, as proteínas e o fluido que foram filtrados do plasma retornam ao sangue.

Em vários pontos do sistema linfático estão estruturas ovais chamadas de *linfonodos*, através dos quais a linfa flui. (veja também a Figura 16.5, página 456). Dentro dos linfonodos estão os macrófagos fixos que ajudam a limpar a linfa de micro-organismos infecciosos. Às vezes, os próprios linfonodos ficam infectados e se tornam visivelmente inchados e doloridos; linfonodos inchados são chamados de **bubões** (veja a Figura 23.11, página 648).

Os linfonodos também são componentes importantes do sistema imune corporal. Os micróbios estranhos que entram nos linfonodos encontram dois tipos de linfócitos: as células B, que são estimuladas para se tornarem plasmócitos que produzem anticorpos humorais; e as células T, que então se diferenciam em células T efetoras que são essenciais para o sistema imune celular.

Figura 23.1 Sistema cardiovascular humano e estruturas relacionadas. Detalhes da circulação da cabeça e das extremidades não são mostrados neste diagrama simplificado. O sangue sai do coração através do sistema arterial (vermelho) para os capilares (roxo) nos pulmões e outras partes do corpo. Desses capilares, o sangue retorna através do sistema venoso (azul) para o coração.

P **Como uma infecção focal pode se tornar sistêmica?**

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que o sistema linfático é tão precioso para o trabalho do sistema imune? **23-1**

Doenças bacterianas dos sistemas cardiovascular e linfático

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

23-2 Listar os sinais e os sintomas da sepse e explicar a importância das infecções que evoluem para o choque séptico.

23-3 Diferenciar sepse gram-negativa, sepse gram-positiva e sepse puerperal.

23-4 Descrever as epidemiologias da endocardite e da febre reumática.

23-5 Descrever a epidemiologia da tularemia.

23-6 Descrever a epidemiologia da brucelose.

23-7 Descrever a epidemiologia do antraz.

23-8 Descrever a epidemiologia da gangrena gasosa.

23-9 Listar três patógenos transmitidos por mordidas de animais e arranhões.

23-10 Comparar e contrastar os agentes causadores, os vetores, os reservatórios, os sintomas, os tratamentos e as medidas

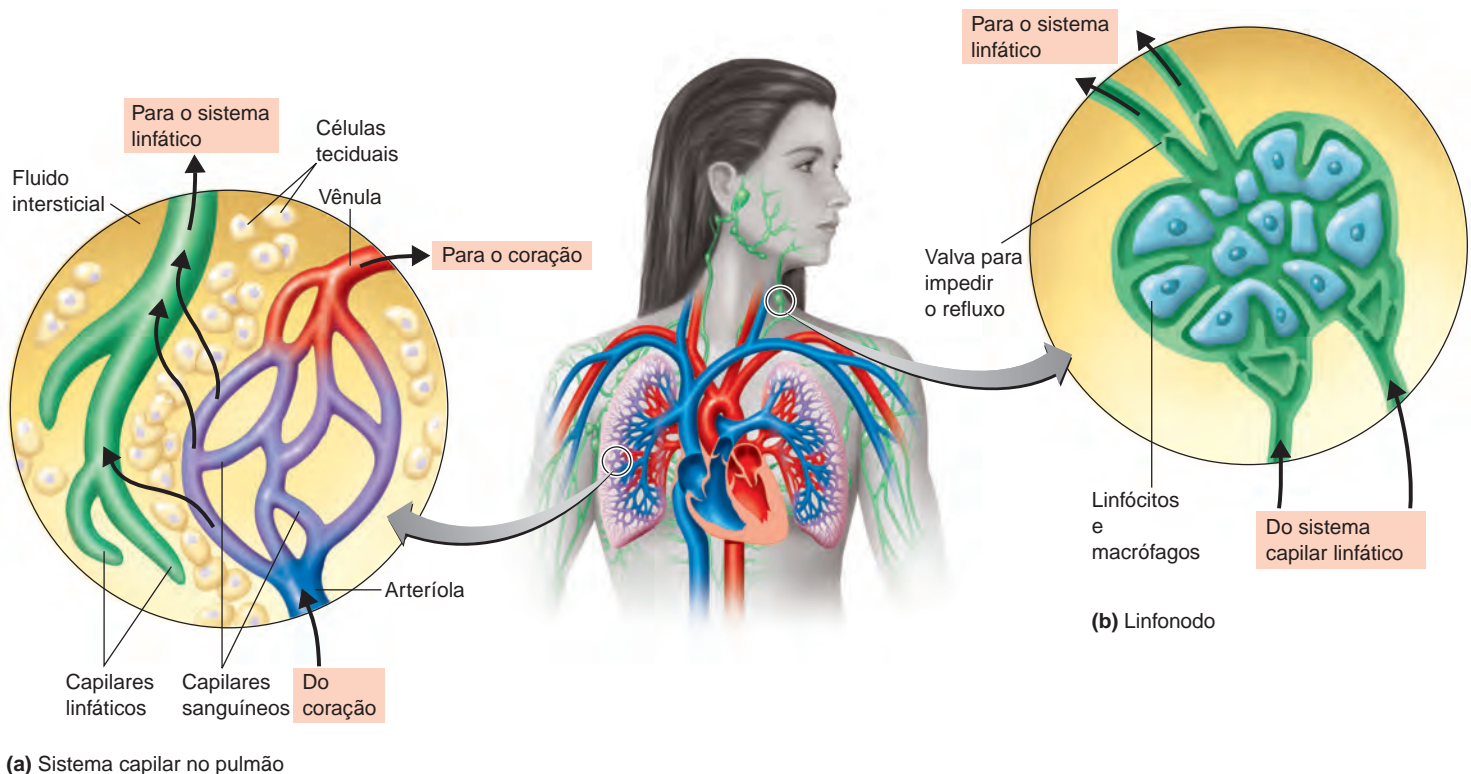



Figura 23.2 **Relação entre os sistemas cardiovascular e linfático.** **(a)** Dos capilares sanguíneos, parte do plasma passa para dentro do tecido circundante e entra nos capilares linfáticos. Esse fluido, agora chamado de linfa, retorna ao coração através do sistema circulatório linfático (verde), que canaliza a linfa para uma veia. **(b)** Toda a linfa que retorna ao coração deve passar através de pelo menos um linfonodo. (Veja também a Figura 16.5, página 456.)

P **Qual a função do sistema linfático na defesa contra a infecção?**

preventivas para a peste, a doença de Lyme e a febre maculosa das Montanhas Rochosas.

23-11 Identificar o vetor, a etiologia e os sintomas das cinco doenças transmitidas por carrapatos.

23-12 Descrever as epidemiologias do tifo endêmico, do tifo endêmico murino e das febres maculosas.

Sepse e choque séptico

Embora o sangue normalmente seja estéril, números moderados de micro-organismos podem entrar na corrente sanguínea sem causar dano. Em condições hospitalares, o sangue muitas vezes é contaminado como resultado de procedimentos invasivos, como a inserção de cateteres e tubos de alimentação intravenosa. O sangue e a linfa contêm várias células fagocíticas defensoras. Além disso, o sangue tem pouco ferro disponível, que é necessário para o crescimento bacteriano. Entretanto, se as defesas dos sistemas cardiovascular e linfático falham, os micróbios podem proliferar no sangue. Uma doença aguda que está associada com a presença e a persistência de micro-organismos patogênicos ou suas toxinas é denominada **septicemia**. Um termo similar que não é equiparado do ponto de vista médico com a septicemia é sepse, embora haja uma tendência em usá-los como sinônimos. A **sepse** é definida como uma síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS, de *systemic inflammatory response syndrome*) causada por um foco de infecção que libera mediadores da inflamação dentro da corrente sanguínea. O local de infecção em si não é necessariamente a corrente sanguínea, e em cerca de metade dos casos nenhum micróbio é encontrado no sangue. A SIRS deve exibir pelo menos duas de um grupo de condições definidas: febre, taxas cardíaca ou respiratória rápidas e uma alta contagem de células brancas do sangue. Se as bactérias infectivas provocarem a lise das hemácias, a liberação de hemoglobina contendo ferro pode resultar em aceleração do crescimento microbiano. A sepse e a septicemia geralmente são acompanhadas pelo aparecimento de **linfangite**, vasos linfáticos inflamados visíveis como estrias vermelhas sob a pele, correndo ao longo do braço ou da perna a partir do local da infecção (**Figura 23.3**).

Se as defesas do corpo não controlarem rapidamente a infecção e a SIRS resultante, os resultados são progressivos e muitas vezes fatais. O primeiro estágio dessa progressão é a sepse. Há evidências de infecção e de uma resposta inflamatória pelo corpo, causadas pela liberação e circulação das citocinas. Os sinais e os sintomas mais óbvios são febre, calafrios e batimentos cardíacos e respiração

Figura 23.3 Linfangite, um sinal de sepse. Quando a infecção se espalha de seu local original ao longo dos vasos linfáticos, as paredes inflamadas dos vasos se tornam visíveis como estrias vermelhas.

P Por que a estria vermelha algumas vezes termina em um certo ponto?

acelerados. Quando a sepse causa uma queda na pressão sanguínea (*choque*) e disfunção de pelo menos um órgão, ela é considerada **sepse severa**. Uma vez que os órgãos comecem a falhar, a taxa de mortalidade se torna alta. Um estágio final, quando a baixa pressão sanguínea não pode mais ser controlada pela adição de fluidos, é o **choque séptico**.

Sepse gram-negativa

O choque séptico é mais provavelmente causado por bactérias gram-negativas. Lembre-se de que as paredes celulares de muitas bactérias gram-negativas (LPS; veja a página 69) contêm endotoxinas que são liberadas após a lise da célula. Essas endotoxinas podem causar uma queda brusca na pressão sanguínea com seus sinais e sintomas associados. O choque séptico geralmente é chamado pelos nomes alternativos *sepse gram-negativa* ou *choque endotóxico*. Menos de um milionésimo de um miligrama de endotoxina é suficiente para causar os sintomas. Cerca de 750.000 casos de choque séptico ocorrem a cada ano nos Estados Unidos; pelo menos 225.000 são fatais.

Um tratamento eficaz para a sepse severa e o choque séptico tem sido a prioridade médica por muitos anos. Os sintomas iniciais da sepse não são muito específicos ou alarmantes em particular. Portanto, os tratamentos com antibióticos que podem interrompê-la muitas vezes não são administrados. A progressão para os estágios letais é rápida e geralmente impossível de tratar de modo eficaz. A administração de antibióticos pode até mesmo agravar a condição ao causar a lise de grandes quantidades de bactérias, que então liberam mais endotoxina.

Além dos antibióticos, o tratamento do choque séptico envolve tentativas de neutralizar os componentes do LPS e as citocinas que causam a inflamação. O órgão de controle de alimentos e medicamentos norte-americano (Food and Drug Administration, FDA) aprovou uma droga, a drotrecogina alfa (Xigris), que é a primeira a reduzir a taxa de mortalidade em casos de sepse. Essa droga é uma versão geneticamente modificada da *proteína C humana ativada* – um anticoagulante natural encontrado em níveis reduzidos em casos de sepse severa e choque séptico (não pode ser confundida com proteína C reativa). A droga reduz o coágulo, que é um fator no dano ao órgão. Xigris não é a tão procurada bala mágica para tratar a sepse: ela é muito cara e eficaz apenas em uma minoria de casos. Entretanto, espera-se que seja amplamente prescrita para o tratamento da sepse gram-negativa e da meningite meningocócica (veja a página 613).

Sepse gram-positiva

As bactérias gram-positivas atualmente são a causa mais comum de sepse. Tanto os estafilococos quanto os estreptococos produzem exotoxinas potentes que causam a síndrome do choque tóxico, uma toxemia discutida no Capítulo 21 (página 588). O uso frequente de procedimentos invasivos nos hospitais permite que as bactérias gram-positivas entrem na corrente sanguínea. Essas infecções nosocomiais são um risco específico para pacientes que são submetidos a hemodiálises regulares para disfunção renal. Os componentes bacterianos que levam ao choque séptico na sepse gram-positiva não são conhecidos com certeza. Possíveis fontes são os vários fragmentos da parede celular de bactérias gram-positivas ou até mesmo o DNA bacteriano.

Um grupo importante de bactérias gram-positivas é o dos enterococos, que são responsáveis por muitas infecções nosocomiais. Os enterococos são habitantes do colo humano e frequentemente contaminam a pele. Considerados por algum tempo inofensivos, duas espécies em particular, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, são hoje reconhecidas como as principais causas das infecções nosocomiais de ferimentos e do trato urinário. Os enterococos têm uma resistência natural à penicilina e têm adquirido rapidamente resistência a outros antibióticos. O que os tornou uma emergência médica é o aparecimento de cepas resistentes à vancomicina. A vancomicina (veja a página 563) costumava ser o único antibiótico ao qual essas bactérias, em particular o *E. faecium*, ainda eram sensíveis. Entre os isolados de *E. faecium* das infecções nosocomiais da corrente sanguínea, quase 90% são resistentes atualmente.

Até esse ponto, nossa discussão sobre os estreptococos tem focado o grupo sorológico A. Há uma conscientização crescente sobre os estreptococos do grupo B (GBS, de *group B streptococci*) e os enterococos. *S. agalactiae* é o único GBS e é a causa mais comum da sepse neonatal com risco à vida. O CDC recomenda que as mulheres grávidas sejam testadas para GBS vaginal e que aquelas com GBS recebam antibióticos durante o parto.

Sepse puerperal

A **sepse puerperal**, também chamada de **febre puerperal** e **febre do parto**, é uma infecção nosocomial. Ela começa como uma infecção do útero resultante de parto ou aborto. *Streptococcus pyogenes*, um estreptococo β-hemolítico do grupo A, é a causa mais frequente, embora outros organismos possam causar infecções desse tipo.

A sepse puerperal progride de uma infecção do útero para uma infecção da cavidade abdominal (*peritonite*) e, em muitos casos,

para sepse. Em um hospital de Paris, entre 1861 e 1864, de 9.886 mulheres que deram à luz, 1.226 (12%) morreram dessas infecções. Essas mortes foram altamente desnecessárias. Quase 20 anos antes, Oliver Wendell Holmes, nos Estados Unidos, e Ignaz Semmelweiss, na Áustria, haviam demonstrado claramente que a doença era transmitida pelas mãos e pelos instrumentos das parteiras ou dos médicos e que a desinfecção das mãos e dos instrumentos poderia impedir essa transmissão. Os antibióticos, em particular a penicilina, e as práticas modernas de higiene hoje têm feito da sepse puerperal por *S. pyogenes* uma complicação incomum nos partos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Quais são duas condições que definem a síndrome da resposta inflamatória sistêmica da sepse? **23-2**
- ✓ As endotoxinas que causam a sepse são de bactérias gram-positivas ou gram-negativas? **23-3**

Infecções bacterianas do coração

A parede do coração consiste em três camadas. A camada interna, chamada de *endocárdio*, reveste o músculo cardíaco em si e recobre as valvas. Uma inflamação do endocárdio é chamada de **endocardite**.

Um tipo de endocardite bacteriana, a **endocardite bacteriana subaguda** (assim chamada porque se desenvolve lentamente; **Figura 23.4**), é caracterizado por febre, fraqueza generalizada e sopro no coração. Ela geralmente é causada por estreptococos α–hemolíticos que são comuns na cavidade oral, embora enterococos ou estafilococos muitas vezes estejam envolvidos. A condição provavelmente surge a partir de um foco de infecção em qualquer parte do corpo, como nos dentes ou nas tonsilas. Os micro-organismos são liberados por extrações de dente ou tonsilectomias, entram na corrente sanguínea e encontram o seu caminho para o coração. Uma fonte mais exótica de infecções que tem levado a casos de endocardite tem sido o *piercing*, em particular no nariz, na língua e até mesmo nos mamilos. Normalmente, essas bactérias seriam rapidamente eliminadas do sangue pelos mecanismos de defesa do corpo. Entretanto, em pessoas cujas válvulas do coração são anormais, tanto por causa de defeitos cardíacos congênitos quanto por doenças como febre reumática e sífilis, as bactérias se alojam nas lesões preexistentes. Dentro das lesões, as bactérias se multiplicam e ficam retidas nos coágulos sanguíneos que as protegem da fagocitose e dos anticorpos. Quando a multiplicação progride e o coágulo se torna maior, fragmentos do coágulo se rompem e podem bloquear os vasos sanguíneos ou se alojar nos rins. Com o tempo, a função das válvulas do coração é prejudicada. Se não tratada com antibióticos apropriados, a endocardite bacteriana subaguda é fatal dentro de alguns meses.

Um tipo progressivo mais rápido de endocardite bacteriana é a **endocardite bacteriana aguda**, que geralmente é causada pelo *Staphylococcus aureus*. Os organismos encontram o seu caminho do local inicial da infecção para as válvulas normais ou anormais; a destruição rápida das válvulas do coração muitas vezes é fatal dentro de alguns dias ou semanas, se não tratada. Os estreptococos também podem causar **pericardite**, uma inflamação do saco ao redor do coração (o *pericárdio*).

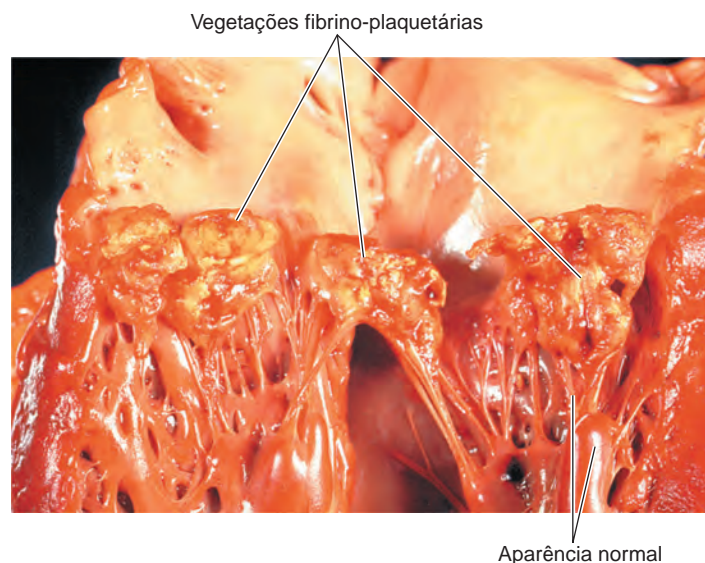



Figura 23.4 **Endocardite bacteriana.** Este é um caso de endocardite subaguda, significando que a condição se desenvolveu em um período de semanas ou meses. O coração foi dissecado para expor a valva mitral. As estruturas em formato de cordões conectam a valva cardíaca aos músculos operantes. A endocardite se desenvolve quando as bactérias se fixam à superfície e se multiplicam, causando um dano que promove a formação de vegetações fibrino-plaquetárias (mostradas na foto). Essas vegetações, um biofilme, encobrem as bactérias aderentes e permitem que elas se multipliquem protegidas das defesas do hospedeiro. Depósitos mais profundos de bactérias fazem com que as camadas de vegetação aumentem.Os sintomas geralmente incluem febre e sopro no coração devido ao funcionamento ineficiente da valva mitral que é detectado por ecocardiograma. O tratamento com antibióticos em altas concentrações geralmente é eficaz.

P **Como a endocardite é contraída?**

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Que procedimentos médicos geralmente são a causa da endocardite? **23-4**

Febre reumática

As infecções por estreptococos, como as causadas por *Streptococcus pyogenes*, algumas vezes levam à **febre reumática**, que geralmente é considerada uma complicação autoimune. Ela ocorre principalmente em pessoas de 4 a 18 anos e muitas vezes segue um episódio de infecção de garganta por estreptococo. Geralmente, a doença se expressa como um curto período de artrite e febre. Nódulos subcutâneos nas articulações com frequência acompanham esse estágio (**Figura 23.5**). Em cerca da metade das pessoas afetadas, uma inflamação do coração, provavelmente de uma reação imune mal-direcionada contra a proteína M estreptocócica, danifica as valvas. A reinfecção com estreptococos renova o ataque imune. O dano às valvas cardíacas pode ser grave o suficiente para resultar em insuficiência e morte.

No início do século XX, a febre reumática matava mais crianças em idade escolar que todas as outras doenças combinadas. A incidência diminuiu de modo constante nos países desenvolvidos,

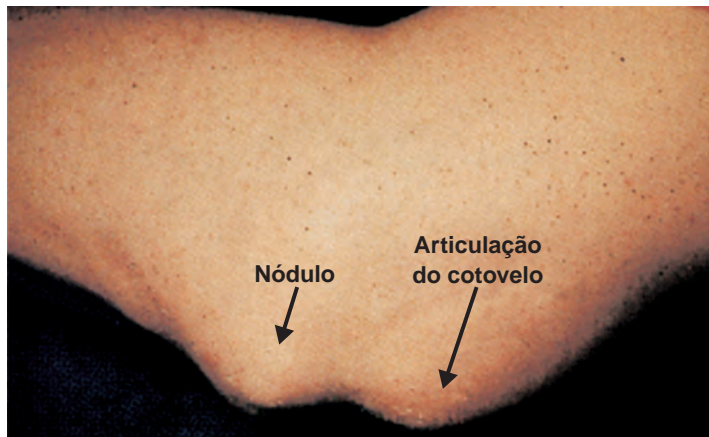



Figura 23.5 **Um nódulo causado por febre reumática.** A febre reumática recebeu esse nome em parte devido aos nódulos subcutâneos característicos que aparecem nas articulações, como mostrado no cotovelo desse paciente. A infecção com estreptococos β-hemolíticos do grupo A algumas vezes resulta nessa complicação autoimune.

P A febre reumática é uma infecção bacteriana?

Figura 23.6 **Casos de tularemia nos Estados Unidos (1990-2000).** Houve 1.347 casos registrados nos condados de resistência. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de casos em cada condado, em uma faixa de 1 a 39.

Fonte: CDC, *MMWR* 51(9), 8 de março de 2002.

P Que região mais próxima a você tem registrado tularemia?

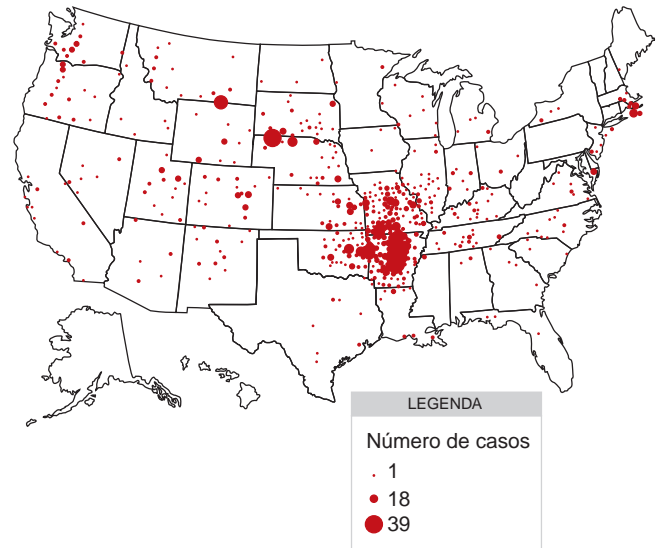
a ponto de se tornar rara mesmo antes da introdução de drogas antimicrobianas eficazes durante as décadas de 1930 e 1940.

Muitos médicos jovens nunca viram um caso da doença, mas em grande parte do mundo subdesenvolvido ela ainda é a principal causa de doenças cardíacas em jovens. Acredita-se que o declínio da febre reumática nos Estados Unidos seja devido a alguma perda da virulência nos estreptococos em circulação. Entretanto, desde a década de 1980 têm ocorrido alguns surtos localizados de febre reumática nos Estados Unidos relacionados a certos sorotipos da proteína M. Esses sorotipos foram prevalentes durante epidemias muito precoces de febre reumática, mas tinham quase desaparecido de circulação. Pessoas que tiveram um episódio de febre reumática estão em risco de dano imunológico renovado com repetidas infecções de garganta por estreptococos. As bactérias permaneceram sensíveis à penicilina, e os pacientes com um risco em particular, como esses, geralmente recebem uma injeção preventiva mensal de penicilina G benzatina de ação prolongada.

Até 10% das pessoas com febre reumática desenvolvem a **coreia de Sydenham**, uma complicação incomum conhecida na Idade Média como dança de Saint Vitus. Vários meses após um episódio de febre reumática, o paciente (muito mais provavelmente uma menina que um menino) apresenta movimentos involuntários, sem propósito, durante as horas de vigília. Ocasionalmente, sedação é necessária para impedir que o paciente se lesione pela agitação dos braços e das pernas. A condição desaparece depois de alguns meses.

A sepse e as infecções do coração estão resumidas em Doenças em Foco 23.1.

Tularemia

A **tularemia** é um exemplo de doença zoonótica, isto é, uma doença transmitida pelo contato com animais infectados, mais comumente coelhos e esquilos. O nome é derivado do Condado de Tulare, na Califórnia, onde a doença foi observada pela primeira vez em esquilos em 1911. O patógeno é *Francisella tularensis*, um pequeno bacilo gram-negativo. Ele pode entrar nos seres humanos por várias vias. A mais comum é a penetração da pele em pequenas abrasões, criando uma úlcera no local. Cerca de uma semana depois da infecção, os linfonodos locais aumentam, muitos contendo bolsas de pus. (Veja o quadro na página 644.) A bactéria pode se multiplicar nos macrófagos – em até mil vezes. A mortalidade muitas vezes é menor que 3%. Se não contida, a proliferação da *F. tularensis* pode levar à sepse e à infecção de múltiplos órgãos.

Quase 90% dos casos nos Estados Unidos estão relacionados ao contato com coelhos, e a doença é mais conhecida como *febre do coelho*. A tularemia também é transmitida em algumas regiões por carrapatos e insetos, sendo conhecida como *febre da mosca do veado*. Infecção respiratória, geralmente por pó contaminado pela urina ou pelas fezes de animais infectados, pode causar uma pneumonia aguda, com uma taxa de mortalidade maior que 30%. A dose infectiva é muito pequena, sendo perigosa a manipulação do organismo se houver probabilidade de produção de aerossóis.

Por algum tempo, eram tão poucos os casos de tularemia registrados anualmente nos Estados Unidos que ela foi removida da lista nacional de doenças notificáveis. Entretanto, a preocupação de que ela possa ser usada como arma biológica levou recentemente à sua recolocação na lista. A **Figura 23.6** ilustra a distribuição geográfica da tularemia dentro dos Estados Unidos. Ela também é encontrada em muitas regiões do Hemisfério Norte.

DOENÇAS EM FOCO 23.1

Infecções de reservatórios humanos

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Micro-organismos em circulação no sangue podem indicar uma infecção grave descontrolada. Por exemplo, uma mulher de 27 anos apresentou febre e tosse por cinco dias. Ela foi hospitalizada quando sua pressão sanguínea caiu. Apesar do tratamento intensivo com fluidos e altas doses de antibióticos, ela morreu cinco horas depois de ser hospitalizada. Cocos gram-positivos, catalase-negativos, foram isolados do sangue da paciente. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Cocos gram-positivos.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Modo de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS					
Choque séptico	Bactérias gram-negativas, enterococos, estreptococos do grupo B	Febre, calafrios, taxa cardíaca aumentada; linfangite	Corpo humano	Injeção; cateterização	Xigris (gram-negativos); antibióticos (gram-positivos)
Sepse puerperal	*Streptococcus pyogenes*	Peritonite; sepse	Nasofaringe humana	Nosocomial	Penicilina
Endocardite subaguda bacteriana ou aguda bacteriana	Principalmente estreptococos α-hemolíticos *Staphylococcus aureus*	Febre, fraqueza generalizada, sopro no coração; dano às valvas cardíacas	Nasofaringe humana	De infecção local	Antibióticos
Pericardite	*Streptococcus pyogenes*	Febre; fraqueza generalizada; sopro no coração	Febre alta seguida de erupção macular no corpo	De infecção local	Antibióticos
Febre reumática	Estreptococos β-hemolíticos do grupo A	Artrite, febre; dano às valvas cardíacas	Reações imunes às infecções estreptocócicas		Apoio. Prevenção: penicilina para tratar infecções de garganta por estreptococos.
DOENÇAS VIRAIS					
Linfoma de Burkitt	Vírus Epstein-Barr (vírus EB)	Tumor	Desconhecido	Desconhecido	Cirurgia
Mononucleose infecciosa	Vírus EB	Febre, fraqueza generalizada	Humanos	Saliva	Nenhum
Citomegalovírus	Citomegalovírus	Principalmente assintomáticos; uma infecção inicial adquirida durante a gestação pode ser prejudicial ao feto	Humanos	Fluidos corporais	Ganciclovir; fomivirsen

A localização intracelular da bactéria é um problema na quimioterapia. A tetraciclina é o antibiótico de escolha.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que animais são o reservatório mais comum da tularemia? 23-5

Brucelose (febre ondulante)

Com mais de 500.000 casos anualmente, a **brucelose** é a zoonose bacteriana mais comum do mundo. O Oriente Médio é uma área endêmica, e vários países da região registram a mais alta incidência da doença no mundo. Ela é muito difundida no Mediterrâneo

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Uma criança doente

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os agentes de saúde se perguntam quando tentam solucionar um problema clínico. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. Em 15 de fevereiro, um menino de três anos foi examinado por seu pediatra para febre, indisposição, linfonodo axilar esquerdo dolorido e pele saindo do dedo anular esquerdo. Amoxicilina foi prescrita.
   Que doenças são possíveis?
2. A criança foi submetida a uma biópsia excisional do linfonodo axilar esquerdo quando febre intermitente e linfonodo dilatado persistiram por 49 dias. O tecido excisado foi cultivado; uma coloração de Gram das bactérias que cresceram é mostrada na figura.
   Que testes adicionais você faria?
3. Testes sorológicos revelaram os seguintes resultados:

Patógeno	Título de anticorpo
Bartonella	0
Ehrlichia	0
Francisella	4.096
CMV	0
Toxoplasma gondii	0

A criança melhorou após tratamento com ciprofloxacina.
Qual é a causa da infecção? O que você precisa saber?

4. PCR foi usada para confirmar a identificação de *Francisella tularensis*. Entre 2 de janeiro e 8 de fevereiro, a família do menino havia comprado seis hamsters de uma loja de animais de estimação. Cada hamster morreu de diarreia uma semana após a compra. Um deles mordeu o dedo anular esquerdo do menino.
   Onde você vai procurar a fonte da infecção?
5. Os funcionários da loja registraram um número incomum de mortes entre os hamsters, mas de nenhum outro animal durante janeiro e fevereiro. Oito outros clientes registraram que seus hamsters morreram dentro de duas semanas após a compra. Os hamsters que estavam disponíveis na loja eram negativos para *F. tularensis* por sorologia e cultura. Um dos dois gatos mantidos como animais de estimação da loja teve teste sorológico positivo para *F. tularensis* com um título de 256. Os hamsters vieram de clientes cujo animais de estimação geraram filhotes inesperados.
   Qual é a fonte mais provável de infecção?
6. Os hamsters vieram de diferentes fontes, de modo que provavelmente não eram a origem da infecção. O teste sorológico positivo em um dos gatos sugere que os roedores selvagens infectados infestaram a loja e espalharam a infecção para os hamsters ao urinar e defecar nas gaiolas. O gato infectado poderia ter tido uma doença não reconhecida depois de pegar ou comer um roedor infectado.

Agentes de saúde pública devem estar atentos ao fato de os roedores de estimação poderem ser uma fonte de tularemia. Identificar o organismo é importante porque muitas vezes ele é resistente aos antibióticos comumente usados para as infecções sistêmicas e de pele, e porque ele é um agente potencial de terrorismo biológico.

Bactérias cultivadas de linfonodo, coradas por Gram

Fonte: Adaptado dos relatórios em *MMWR* 53(52):1202, 7 de janeiro de 2005; e *MMWR* 54(7):170, 25 de fevereiro de 2005.

e no sudeste da Europa, na Ásia, na América Latina e no Caribe. Ela também é economicamente importante como uma doença de animais nos países desenvolvidos. Casos humanos de brucelose geralmente não são fatais, mas a doença tende a persistir no sistema reticuloendotelial (veja a página 457), onde as bactérias evadem as defesas do hospedeiro; elas são sobretudo capazes de escapar das células fagocíticas. Essa habilidade permite a sobrevivência de longa duração e a replicação. A doença em geral torna-se crônica e é capaz de afetar qualquer sistema orgânico.

As bactérias *Brucella* são pequenos bacilos cocoides gram-negativos e aeróbicos. Durante a manipulação em laboratório, elas são facilmente transmitidas pelo ar e são consideradas perigosas de manipular. De fato, elas são consideradas um agente potencial de bioterrorismo. Existem três espécies de maior interesse. A *Brucella abortus* é encontrada principalmente no gado, mas também infecta camelos, bisões e vários outros animais. A *Brucella suis* é uma espécie que infecta principalmente suínos, mas é conhecida por infectar o gado quando mantido em contato com rebanhos suínos. Funcionários de abatedouros que entram em contato com carcaças de suínos estão em risco de brucelose dessa espécie. O patógeno mais grave, e a causa da maioria dos casos humanos, é a *Brucella melitensis*. Essa espécie é mais comumente encontrada hoje em cabras e ovelhas.

O padrão de brucelose nos Estados Unidos tem mudado nas últimas décadas. Em algum momento, a maioria dos casos humanos nos Estados Unidos era atribuída a *B. abortus*. Contudo, uma campanha intensiva de testes e vacinação eliminou a brucelose no gado (há uma vacina disponível para animais, mas não para seres humanos), e *B. abortus* hoje raramente é uma causa de doença humana. Atualmente, a maioria dos casos de brucelose é causada por *B. melitensis*, predominantemente entre os membros hispânicos da população. A doença é endêmica no México e geralmente chega aos Estados Unidos em produtos alimentícios

não pasteurizados, como o queijo de pasta mole mexicano feito de leite de cabra.

O período de incubação geralmente é de uma a três semanas, mas pode ser até maior. Os sintomas da brucelose apresentam um amplo espectro, dependendo do estágio da doença e dos órgãos afetados. Tipicamente, eles incluem febre (em geral subindo e descendo, o que conferiu à doença o nome alternativo de febre ondulante), indisposição, sudorese noturna e dores musculares. Embora vários testes sorológicos estejam disponíveis, há ainda a necessidade de um teste diagnóstico definitivo. A prova diagnóstica final é o isolamento da *Brucella* do sangue ou do tecido do paciente. Uma vez que a doença não é comum, o diagnóstico muitas vezes deve partir de entrevistas com o paciente que sugerem um contato em áreas endêmicas.

A antibioticoterapia é possível, uma vez que as bactérias não têm apresentado desenvolvimento de resistência. Entretanto, o tratamento deve ser prolongado, de pelo menos seis semanas, envolvendo uma combinação de, no mínimo, dois antibióticos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que grupo étnico nos Estados Unidos é mais comumente afetado pela brucelose? **23-6**

Antraz

Em 1877, Robert Koch isolou o *Bacillus anthracis*, a bactéria que causa o **antraz** em animais. O bacilo formador de endosporos é um micro-organismo gram-positivo grande, que aparentemente é capaz de crescer lentamente em tipos de solo apresentando condições de umidade específicas. Os endosporos já sobreviveram em testes do solo por até 60 anos. A doença atinge principalmente animais de pastejo, como o gado e as ovelhas. Os endosporos do *B. anthracis* são ingeridos juntamente com o capim, causando uma sepse fulminante.

A incidência de antraz humano atualmente é rara nos Estados Unidos, mas ocorrências em animais de pastejo não são incomuns. Pessoas em risco são aquelas que trabalham com animais, peles, lã e outros produtos animais de certos países estrangeiros.

As infecções por *B. anthracis* são iniciadas por endosporos. Uma vez introduzidos no corpo, eles são capturados pelos macrófagos, onde germinam as células vegetativas. Eles não são mortos; ao contrário, se multiplicam, finalmente matando o macrófago. As bactérias liberadas então entram na corrente sanguínea, replicam-se rapidamente e secretam toxinas.

Os principais fatores de virulência do *B. anthracis* são duas exotoxinas. Ambas compartilham um terceiro componente tóxico, uma proteína de ligação ao receptor chamada de *antígeno protetor*, que se liga às toxinas para atingir as células e permitir sua entrada. Uma toxina, a *toxina edema*, causa edema local (inchaço) e interfere com a fagocitose dos macrófagos, o que incapacita uma defesa essencial do hospedeiro. Além disso, a cápsula do *B. anthracis* é muito incomum. Ela não é um polissacarídeo, mas é constituída de resíduos aminoácidos, que por alguma razão não estimulam uma resposta protetora pelo sistema imune. Portanto, uma vez que as bactérias antraz entram na corrente sanguínea, elas proliferam sem qualquer inibição eficaz até que haja dezenas de milhões por mililitro. Essas populações imensas de bactérias secretoras de toxina finalmente matam o hospedeiro.

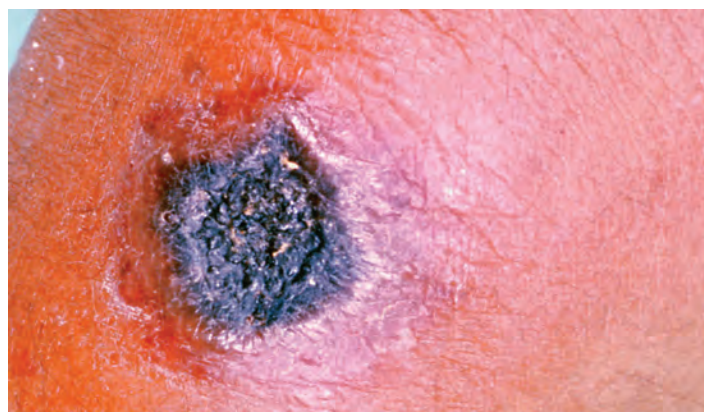



Figura 23.7 Lesão por antraz. O inchaço e a formação de uma casca preta ao redor do ponto de infecção são características do antraz cutâneo.

P Quais são os outros tipos de antraz?

O antraz afeta os seres humanos de três formas: antraz cutâneo, antraz gastrintestinal e antraz inalatório (pulmonar).

O **antraz cutâneo** resulta do contato com material contendo endosporos de antraz. Mais de 90% dos casos de ocorrência natural em seres humanos são cutâneos; o endosporo entra em alguma lesão pequena na pele. Uma pápula aparece e então se torna uma vesícula, que se rompe e forma uma área ulcerada em depressão, coberta por uma escara negra (crosta de ferida), como mostrado na **Figura 23.7.** (O nome *antraz* é derivado da palavra grega para carvão.) Na maioria dos casos, o patógeno não entra na corrente sanguínea, e outros sintomas são limitados a uma febre baixa e indisposição. Entretanto, se as bactérias entram na corrente sanguínea, a mortalidade sem o tratamento com antibiótico pode chegar a 20%; com antibioticoterapia, a mortalidade geralmente é de menos de 1%.

Uma forma relativamente rara de antraz é o **antraz gastrintestinal** causado pela ingestão de alimento mal cozido contendo endosporos de antraz. Os sintomas são náusea, dor abdominal e diarreia sanguinolenta. Lesões ulcerativas ocorrem no trato gastrintestinal, desde a boca e a garganta até, principalmente, os intestinos. A mortalidade geralmente é de mais de 50%.

A forma mais perigosa do antraz em seres humanos é o **antraz inalatório** (**pulmonar**). Os endosporos inalados para os pulmões têm uma alta probabilidade de entrar na corrente sanguínea. Os sintomas dos primeiros dias da infecção não são muito alarmantes: febre branda, tosse e alguma dor no peito. A doença pode ser interrompida nesse estágio por antibióticos, mas, a menos que a suspeita de antraz seja alta, é improvável que sejam administrados. Quando a bactéria entra na corrente sanguínea e prolifera, a doença progride em 2 a 3 dias para um choque séptico, que geralmente mata o paciente dentro de 24 a 36 horas. A taxa de mortalidade é excepcionalmente alta, se aproximando dos 100%.

Figura 23.8 Dedos do pé de um paciente com gangrena. A doença é causada por *Clostridium perfringens* e outros clostrídios. O tecido escuro, necrótico, resultante de má circulação ou lesão, fornece condições de crescimento anaeróbico para as bactérias, que então progressivamente destroem o tecido adjacente.

P Como a gangrena pode ser prevenida?

Os antibióticos são eficazes no tratamento do antraz se forem administrados a tempo. As drogas recomendadas atualmente são a ciprofloxacina ou a doxiciclina, mais um ou dois agentes que sejam reconhecidamente ativos contra o patógeno. Como precaução, as pessoas que foram expostas aos endosporos do antraz podem receber doses preventivas dos antibióticos por um tempo. Esse período geralmente é muito longo, uma vez que a experiência tem mostrado que até 60 dias podem transcorrer antes que os endosporos inalados germinem e iniciem a doença ativa.

A vacinação do gado contra o antraz é um procedimento em áreas endêmicas. Uma única dose de uma vacina viva atenuada é usada. Contudo, é considerada segura para uso em seres humanos. A única vacina atualmente aprovada para uso em seres humanos contém uma forma inativada da toxina antigênica protetora e foi criada para impedir a entrada das outras duas toxinas nas células do hospedeiro. A vacina requer uma série de seis injeções durante um período de 18 meses, seguido de reforços anuais. Em vista do uso recente do antraz como uma arma do bioterrorismo (veja o quadro na página 649), a necessidade de uma vacina humana mais prática tornou-se urgente. O alvo é uma vacina que requeira não mais de três injeções e trabalhe rápido o bastante para que possa ser dada *logo após* a exposição aos endosporos do antraz.

O diagnóstico de antraz geralmente consiste no isolamento e na identificação do *B. anthracis* a partir de espécimes clínicos – o que é um procedimento muito lento para a detecção de surtos por bioterrorismo. Um teste de sangue pode detectar os casos inalatório e cutâneo dentro de uma hora. Além disso, algumas instalações de triagem de correspondências são equipadas com sensores eletrônicos automatizados que podem imediatamente detectar os esporos de antraz.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ De que modo animais como o gado tornam-se vítimas do antraz? **23-7**

Gangrena

Se um ferimento faz com que o suprimento sanguíneo seja interrompido, uma condição conhecida como **isquemia**, o ferimento torna-se anaeróbico. A isquemia leva à **necrose**, ou morte do tecido. A morte do tecido mole resultante da perda de suprimento sanguíneo é chamada de **gangrena** (**Figura 23.8**). Essas condições também podem ocorrer como uma complicação do diabetes.

Substâncias liberadas de células morrendo ou mortas oferecem nutrientes para muitas bactérias. Várias espécies do gênero *Clostridium*, que são anaeróbicas gram-positivas formadoras de endosporo, amplamente encontradas no solo e no trato intestinal dos seres humanos e dos animais domésticos, crescem rapidamente nessas condições. *C. perfringens* é a espécie mais comumente envolvida na gangrena, mas outros clostrídios e várias outras bactérias também podem crescer nesses ferimentos.

Uma vez que a isquemia e a necrose subsequente causadas pelo suprimento sanguíneo prejudicado tenham se desenvolvido, a **gangrena gasosa** pode se desenvolver, principalmente no tecido muscular. Quando os micro-organismos *C. perfringens* crescem, eles fermentam carboidratos no tecido e produzem gases (dióxido de carbono e hidrogênio) que incham o tecido. As bactérias produzem toxinas que se movem ao longo dos feixes das fibras musculares, matando as células e produzindo tecido necrótico que é favorável a mais crescimento. Finalmente, essas toxinas e as bactérias entram na corrente sanguínea e causam doença sistêmica. As enzimas produzidas pelas bactérias degradam o colágeno e o tecido proteináceo, facilitando a disseminação da doença. Sem tratamento, a condição é fatal.

Uma complicação de abortos inadequadamente realizados é a invasão da parede uterina pelo *C. perfringens*, que reside no trato genital de cerca de 5% das mulheres. Essa infecção pode levar à gangrena gasosa e resultar em invasão da corrente sanguínea com risco à vida.

A remoção cirúrgica do tecido e a amputação são os tratamentos médicos mais comuns para a gangrena gasosa. Quando a doença ocorre em regiões como a cavidade abdominal, o paciente pode ser tratado em uma **câmara hiperbárica**, que contém uma atmosfera rica em oxigênio pressurizado (**Figura 23.9**). O oxigênio satura os tecidos infectados e assim impede o crescimento do clostrídio anaeróbico obrigatório. Pequenas câmaras estão disponíveis para acomodar um membro com gangrena. A limpeza imediata de ferimentos graves e o tratamento com antibiótico por precaução são as medidas mais eficazes para prevenir a doença. A penicilina é eficaz contra *C. perfringens*.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que as câmaras hiperbáricas são eficazes para tratar a gangrena gasosa? **23-8**

Doenças sistêmicas causadas por mordidas e arranhões

Mordidas de animais podem resultar em infecções graves. Aproximadamente 4,4 milhões de mordidas de animais ocorrem nos Estados Unidos a cada ano, representando cerca de 1% das consultas de emergência nos hospitais.

Figura 23.9 Câmaras hiperbáricas usadas para tratar gangrena gasosa. Uma câmara hiperbárica com vários lugares, que pode acomodar muitos pacientes, é mostrada. Essas câmaras normalmente estão disponíveis nos principais centros médicos. Elas são usadas para tratar vítimas de envenenamento por monóxido de carbono.

P Dê o nome de outra doença bacteriana que poderia ser tratada em uma câmara hiperbárica.

Mordidas de cães constituem pelo menos 80% dos incidentes registrados; mordidas de gatos, apenas cerca de 10%. As mordidas de gatos são, entretanto, mais penetrantes, resultando em uma taxa de infecção maior (30 a 50%) que as de cães (15 a 20%). Os animais domésticos geralmente abrigam *Pasteurella multocida*, um bacilo gram-negativo similar à bactéria *Yersinia*, que causa a peste (página 648). *P. multocida* é um patógeno principalmente de animais e causa sepse (daí o nome *multocida*, que significa muitas mortes).

Os seres humanos infectados com *P. multocida* apresentam respostas variadas. Por exemplo, infecções localizadas com inchaço grave e dor podem se desenvolver no local do ferimento. Formas de pneumonia e sepse podem se desenvolver e oferecem risco à vida. A penicilina e a tetraciclina geralmente são eficazes para tratar essas infecções.

Além da *P. multocida*, uma variedade de espécies bacterianas anaeróbicas é com frequência encontrada nas mordidas de animais infectados, assim como espécies de *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*. Mordidas de seres humanos, na maior parte como resultado de brigas, também estão sujeitas a infecções graves. Na verdade, antes de a antibioticoterapia tornar-se disponível, quase 20% das vítimas de mordidas de seres humanos nas extremidades exigiam amputação – atualmente apenas cerca de 5% dos casos exigem.

Doença da arranhadura do gato

A **doença da arranhadura do gato**, embora receba pouca atenção, é surpreendentemente comum. Um número estimado de 22.000 casos ou mais ocorre anualmente nos Estados Unidos, muito mais casos do que a conhecida doença de Lyme. Pessoas que possuam gatos ou estejam intimamente expostas a eles estão em risco. O patógeno é uma bactéria gram-negativa aeróbica, *Bartonella henselae*. A microscopia mostra que a bactéria pode habitar o interior de algumas hemácias do gato. Ela está conectada ao exterior da célula e ao fluido extracelular que a circunda

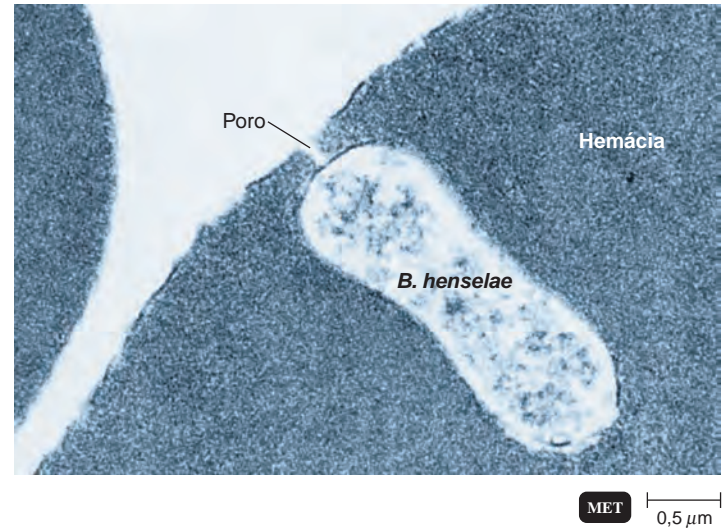



Figura 23.10 Eletromicrografia mostrando a localização da *Bartonella henselae* dentro de uma hemácia. Apenas um poro conecta a bactéria com o fluido extracelular.

P Por que a infecção por *B. henselae* pode persistir em gatos?

por um poro (**Figura 23.10**). Como residentes, as bactérias causam uma bacteremia persistente nos gatos; estima-se que 50% dos gatos domésticos e selvagens carreguem essas bactérias no sangue. O principal modo de transmissão é pelo arranhão; é incerto se as mordidas dos gatos ou as picadas das pulgas dos gatos transmitem a doença para os seres humanos. Contudo, a presença das pulgas é definitivamente um requisito para que a infecção seja mantida entre os gatos. A *B. henselae* se multiplica no sistema digestório da pulga e sobrevive por vários dias em suas fezes. As patas do gato então se tornam contaminadas com as fezes da pulga.

O primeiro sinal é uma pápula no local da infecção, que aparece 3 a 10 dias depois da exposição. Inchaço dos linfonodos, indisposição e febre se seguem em algumas semanas, mas em casos graves a antibioticoterapia pode ser eficaz.

Febre da mordida do rato

Em grandes áreas urbanas (até mesmo nos Estados Unidos), a população de ratos não é controlada, e mordidas de ratos são uma ocorrência bastante comum – podendo causar a doença da **febre da mordida do rato**. Por um tempo, as vítimas das mordidas de ratos eram crianças pequenas em habitações precárias. Hoje, os ratos são populares como animais de estudo em laboratórios e até mesmo como animais de estimação; pacientes potenciais muitas vezes são técnicos de laboratório que manuseiam ratos, assim como donos de animais de estimação e funcionários de lojas de bichos de estimação. Embora cerca de metade dos ratos selvagens e de laboratório seja conhecida por portar os patógenos bacterianos, apenas uma minoria das mordidas de rato (cerca de 10%) resulta em doença.

Existem duas doenças semelhantes, porém distintas. Na América do Norte, a doença mais comum, chamada de *febre da mordida do rato estreptobacilar*, é causada pelo *Streptobacillus monilliformis*

Figura 23.11 Um caso de peste bubônica. A peste bubônica é causada pela infecção com *Yersinia pestis*. Esta fotografia mostra um bulbo (linfonodo inchado) na coxa de um paciente. Os linfonodos inchados são uma indicação comum de infecção sistêmica.

P De que modo a peste é transmitida?

(quando o patógeno é ingerido, a doença é denominada *febre de Haverhill*). Essa é uma bactéria filamentosa, gram-negativa, altamente pleomórfica, meticulosa e difícil de cultivar, embora o isolamento em cultura seja o melhor método diagnóstico. Os sintomas são inicialmente febre, calafrios e dor muscular e nas articulações, seguidos de um exantema nas extremidades em alguns dias. Ocasionalmente há complicações mais graves; se não tratada, a mortalidade é de cerca de 10%.

O outro patógeno bacteriano que causa a febre da mordida do rato é o *Spirillum minus*. Nesse caso, a doença é chamada de *febre espiralar*; na Ásia, onde a maioria dos casos ocorre, ela é conhecida como *sodoku*. Ela é mais provável de ocorrer devido a mordidas de roedores selvagens. Os sintomas são similares aos da febre da mordida do rato estreptobacilar. Uma vez que o patógeno não pode ser cultivado, o diagnóstico é feito por observação microscópica da bactéria gram-negativa, que tem a forma espiral. O tratamento com penicilina ou doxiciclina geralmente é eficaz para ambas as formas de febre da mordida do rato.

Infecções cardiovasculares transmitidas aos seres humanos pelo contato com outros animais estão resumidas em Doenças em Foco 23.2.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ *Bartonella henselae*, o patógeno da doença da arranhadura do gato, é capaz de crescer em que inseto? **23-9**

Doenças transmitidas por vetores

As doenças transmitidas por vetores do sistema cardiovascular estão resumidas em Doenças em Foco 23.3

Peste

Poucas doenças afetaram a história humana mais dramaticamente que a **peste**, conhecida na Idade Média como a Morte Negra. Esse termo vem de uma de suas características, as áreas azul-escuras da pele causadas por hemorragias.

A doença é causada por uma bactéria gram-negativa, em forma de bacilo, *Yersinia pestis*. Normalmente uma doença de ratos, a peste é transmitida de um rato para outro pela pulga do rato, *Xenopsylla cheopis* (veja a Figura 12.32b, página 363). No extremo oeste e no sudoeste dos Estados Unidos, a doença é endêmica em roedores selvagens, principalmente esquilos e cães da pradaria.

Se o hospedeiro morrer, a pulga procura um hospedeiro substituto, que pode ser outro roedor ou um ser humano. Ela pode saltar cerca de 9 cm. Uma pulga infectada pela peste é faminta por uma refeição porque o crescimento das bactérias forma um biofilme que bloqueia seu trato digestório, e o sangue que ela ingere é rapidamente regurgitado. Um vetor artrópode nem sempre é necessário para a transmissão da peste. O contato com a pelagem de animais infectados, arranhaduras, mordidas e lambidas de gatos domésticos e incidentes similares foram registrados como causa de infecção.

Nos Estados Unidos, a exposição à peste está aumentando, à medida que as áreas residenciais invadem áreas com animais infectados. Em regiões do mundo onde a proximidade com ratos é comum, a infecção por essa fonte ainda prevalece.

Após a picada da pulga, as bactérias entram na corrente sanguínea humana e proliferam na linfa e no sangue. Um fator de virulência da bactéria da peste é sua capacidade de sobreviver e proliferar dentro das células fagocíticas em vez de ser destruída por elas. Um número elevado de organismos altamente virulentos acaba emergindo, resultando em uma infecção devastadora. Os linfonodos da virilha e das axilas tornam-se aumentados, e a febre se desenvolve quando as defesas do corpo reagem à infecção. Esses inchaços, chamados de *bubões*, são responsáveis pelo nome **peste bubônica** (Figura 23.11). Essa é a forma mais comum, compreendendo 80 a 95% dos casos atualmente. A taxa de mortalidade da peste bubônica não tratada é de 50 a 75%. Morte, se ocorrer, geralmente se dá em menos de uma semana depois do aparecimento dos sintomas.

Uma condição particularmente perigosa chamada de **peste septicêmica** surge quando as bactérias entram no sangue e proliferam, causando choque séptico. Finalmente, o sangue carrega as bactérias para os pulmões, resultando em uma forma da doença chamada de **peste pneumônica**. A taxa de mortalidade por esse tipo de peste é de quase 100%. Até mesmo nos dias de hoje, essa doença raramente pode ser controlada se não for reconhecida dentro de 12 a 15 horas após o início da febre.

A peste pneumônica é facilmente disseminada por gotículas trazidas pelo ar de seres humanos ou animais. Deve-se ter muito cuidado para impedir infecções transmitidas pelo ar das pessoas em contato com os pacientes.

A Europa foi devastada por repetidas pandemias da peste; no período de 542 a 767, surtos ocorriam repetidamente em ciclos de alguns anos. Depois de um intervalo de séculos, a doença reapa-

Proteção contra o bioterrorismo

A ideia de armas biológicas, ou bioarmas – isto é, o uso de patógenos vivos com propósitos hostis – não é nova. O uso mais antigo registrado de armas biológicas ocorreu em 1346. O exército de Tartar catapultou corpos devastados pela peste por sobre os muros de Kaffa (Ucrânia). Após a queda de Kaffa, os sobreviventes que escaparam da cidade tomada introduziram a peste na Europa. Desse modo, começou a peste pandêmica de 1348-1350. Durante a Guerra Sino-Japonesa (1937-1945), aviões lançaram caixas contendo pulgas carregando *Yersinia pestis* sobre a China.

Em 1979, o *Bacillus anthracis* estava sendo produzido em Sverdlovsk (União Soviética) quando uma liberação acidental resultou em 100 mortes em um período de duas semanas.

Historicamente, armas biológicas têm sido associadas com ações militares. O uso de agentes biológicos para intimidar civis e governos, o **bioterrorismo**, iniciou no final do século XX.

- Em 1984, um grupo religioso atacou os habitantes de The Dalles, Oregon, ao contaminar intencionalmente alimentos em restaurantes e supermercados com *Salmonella enterica*.
- Em 1996, 15 pessoas desenvolveram gastroenterite grave, exigindo hospitalização, quando um funcionário de um laboratório contaminou intencionalmente massas com *Shigella dysenteriae*.
- Em 2001, alguém usou o Serviço de Correios dos Estados Unidos para espalhar *Bacillus anthracis* nas cidades de Nova Iorque e Washington.

Um dos problemas com as armas biológicas é que elas contêm organismos vivos (veja a tabela), de modo que seu impacto é difícil de controlar ou até mesmo prever. Quando o uso de agentes biológicos é considerado uma possibilidade, militares e socorristas (profissionais de auxílio à saúde e outros) são vacinados, caso exista uma vacina para o agente suspeito. O plano atual para proteger os civis caso houver um ataque com um micróbio é ilustrado pelo plano preparativo contra a varíola. Não é prático vacinar todos contra a doença. A estratégia atual do governo norte-americano após um surto confirmado de varíola inclui "anel de contenção e vacinação voluntária". Anel de contenção consiste em identificar as pessoas com a infecção, vacinar todos que tiveram contato com os infectados, e então vacinar as pessoas nas regiões ao redor.

Talvez não seja possível deter todas as guerras, mas o sistema público de saúde norte-americano está melhorando sua habilidade de responder às armas biológicas. Testes rápidos para detectar alterações genéticas nos hospedeiros devido às armas biológicas até mesmo antes que os sintomas se desenvolvam estão sendo desenvolvidos. Sistemas de alerta precoces, como chips de DNA ou células recombinantes que fluorescem (veja a figura) na presença de uma arma biológica, estão sendo criados. Novas vacinas estão sendo desenvolvidas, e vacinas existentes estão sendo estocadas para uso quando preciso.

O detector de armas biológicas chamado de Canary utiliza células B específicas para uma bactéria ou vírus em particular. As células B são desenvolvidas para emitir luz quando detectam seus patógenos-alvo.

A arma biológica "ideal" é aquela que é disseminada por aerossol de maneira eficiente de um ser humano para outro, causa uma doença debilitante e não apresenta tratamento imediato disponível. Listas de potenciais armas biológicas contêm os seguintes organismos:

Bactéria	Vírus
Bacillus anthracis	Pólio e sarampo erradicados
Brucella spp.	Vírus da encefalite
Chlamydophila psittaci	Vírus da febre hemorrágica (Ebola, Marburg, Lassa)
Toxina do *Clostridium botulinum*	Influenza A (cepa de 1918)
Coxiella burnetii	Varíola símia (*monkeypox*)
Francisella tularensis	Vírus Nipah
Rickettsia prowazekii	Varíola
Shigella spp.	Febre amarela
Vibrio cholerae	
Yersinia pestis	

DOENÇAS EM FOCO 23.2

Infecções de reservatórios animais transmitidas por contato direto

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. As doenças a seguir devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de pacientes com exposição a animais. Por exemplo, uma garota de 10 anos foi hospitalizada depois de apresentar febre (40°C) por 12 dias e dores nas costas por oito dias. As bactérias não puderam ser cultivadas a partir dos tecidos. Ela apresentou uma história recente de arranhaduras por cão e gato. A paciente se recuperou sem tratamento. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Arranhadura infectada da paciente.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Modo de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS					
Brucelose	*Brucella* spp.	Abscesso local; febre ondulante	Mamíferos de pastejo	Contato direto	Tetraciclina; estreptomicina
Antraz	*Bacillus anthracis*	Pápula (cutânea); diarreia sanguinolenta (gastrintestinal); choque séptico (inalatório)	Solo; grandes mamíferos de pastejo	Contato direto; ingestão; inalação	Ciprofloxacino; doxiciclina
Mordidas de animais	*Pasteurella multocida*	Infeção local; sepse	Bocas dos animais	Mordidas de cão/gato	Penicilina
Febre da mordida do rato	*Streptobacillus moniliformis*, *Spirillum minus*	Sepse	Ratos	Mordidas de ratos	Penicilina
Doença da arranhadura do gato	*Bartonella henselae*	Febre prolongada	Gatos domésticos	Mordidas ou arranhaduras de gato, pulgas	Antibióticos
DOENÇAS PARASITÁRIAS					
Toxoplasmose	*Toxoplasma gondii*	Doença branda; uma infecção inicial adquirida durante a gravidez pode ser prejudicial ao feto; doença grave em pacientes com Aids	Gatos domésticos	Ingestão	Pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico

receu de forma devastadora nos séculos XIV e XV. Estima-se que ela tenha matado mais de 25% da população, resultando em efeitos duradouros na estrutura social e econômica da Europa. Uma pandemia no século XIX afetou principalmente os países asiáticos; estima-se que 12 milhões de pessoas tenham morrido na Índia. O último grande surto urbano associado aos ratos nos Estados Unidos ocorreu em Los Angeles em 1924 e 1925. Após esse episódio, a doença tornou-se uma raridade, até seu reaparecimento em 1965 na reserva de Navajo no sudoeste norte-americano. A peste, uma vez estabelecida nas comunidades de esquilos e cães da pradaria nessa região, espalhou-se gradualmente para grande parte dos estados do oeste (**Figura 23.12**). Um pico de incidência de 40 casos ocorreu em 1983. Alguns casos também se originaram de gatos, um novo reservatório animal, e um de esquilos urbanos.

A peste é mais comumente diagnosticada pelo isolamento da bactéria, que é então enviada para um laboratório para identificação. Um teste de diagnóstico rápido, entretanto, pode detectar prontamente a presença do antígeno capsular de *Y. pestis* no sangue e em outros fluidos dos pacientes dentro de 15 minutos, até mesmo sob condições de campo precárias. As pessoas expostas à infecção podem receber proteção antibiótica profilática. Vários antibióticos, incluindo a estreptomicina e a tetraciclina, são eficazes. A recuperação da doença confere imunidade confiável. Uma vacina está disponível para pessoas que possam entrar em contato com pulgas infectadas durante trabalhos de campo ou para profissionais de laboratório expostos ao patógeno.

DOENÇAS EM FOCO 23.3

Um macrófago praticamente cheio de células ovoides.

Infecções transmitidas por vetores

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. As doenças a seguir devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de pacientes com uma história de picadas de insetos e carrapatos ou que viajaram para países endêmicos. Essas doenças são todas prevenidas pelo controle da exposição às picadas de insetos e carrapatos. Por exemplo, um soldado de 22 anos retornando de uma viagem a serviço no Iraque apresentou três úlceras de pele indolores. Ele registrou que fora picado por insetos todas as noites. Corpúsculos ovoides parecidos com protozoários foram observados dentro de seus macrófagos após exame com um microscópio de campo claro. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Modo de transmissão	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS					
Tularemia	*Francisella tularensis*	Infecção local; pneumonia	Coelhos; esquilos	Contato direto com animais infectados; picada pelo mosquito do veado; inalação	Tetraciclina
Peste	*Yersinia pestis*	Linfonodos aumentados; choque séptico	Roedores	Pulgas; inalação	Estreptomicina; tetraciclina
Febre recorrente	*Borrelia* spp.	Série de picos de febre	Roedores	Carrapatos argasídeos	Tetraciclina
Doença de Lyme	*Borrelia burgdorferi*	Erupções cutâneas do tipo olho-de-boi; sintomas neurológicos	Camundongos silvestres; veados	Carrapatos *Ixodes*	Antibióticos
Erliquiose e anaplasmose	*Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp.	Sintomas parecidos com os da gripe	Veados	Carrapatos	Tetraciclina
Tifo endêmico	*Rickettsia prowazekii*	Febre alta, estupor, erupção cutânea	Esquilos	Piolho *Pediculus humanus corporis*	Tetraciclina; cloranfenicol
Tifo endêmico murino	*Rickettsia typhi*	Febre; erupção cutânea	Roedores	Pulga *Xenopsylla cheopsis*	Tetraciclina; cloranfenicol
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	*Rickettsia rickettsii*	Exantema papular; febre; cefaleia	Carrapatos; pequenos mamíferos	Carrapatos *Dermacentor*	Tetraciclina; cloranfenicol
DOENÇAS VIRAIS					
Febre chikungunya	*Vírus Chickungunya*	Febre; dor articular	Humanos	Mosquitos	Suporte
DOENÇAS PARASITÁRIAS					
Doença de Chagas (tripanossomíase americana)	*Trypanosoma cruzi*	Dano ao músculo cardíaco ou aos movimentos peristálticos do trato gastrintestinal	Roedores; gambás	Barbeiro triatomíneo	Nifurtimox
Malária	*Plasmodium* spp.	Febre e calafrios em intervalos	Humanos	Mosquito *Anopheles*	Cloroquina
Leishmaniose	*Leishmania* spp.	*L. donovani*: doença sistêmica; *L. tropica*: feridas doloridas; *L. braziliensis*: dano desfigurante às membranas mucosas	Pequenos mamíferos	Flebotomíneo	Compostos antimoniais
Babesiose	*Babesia microti*	Febre e calafrios em intervalos	Roedores	Carrapatos *Ixodes*	Atovaquona e azitromicina

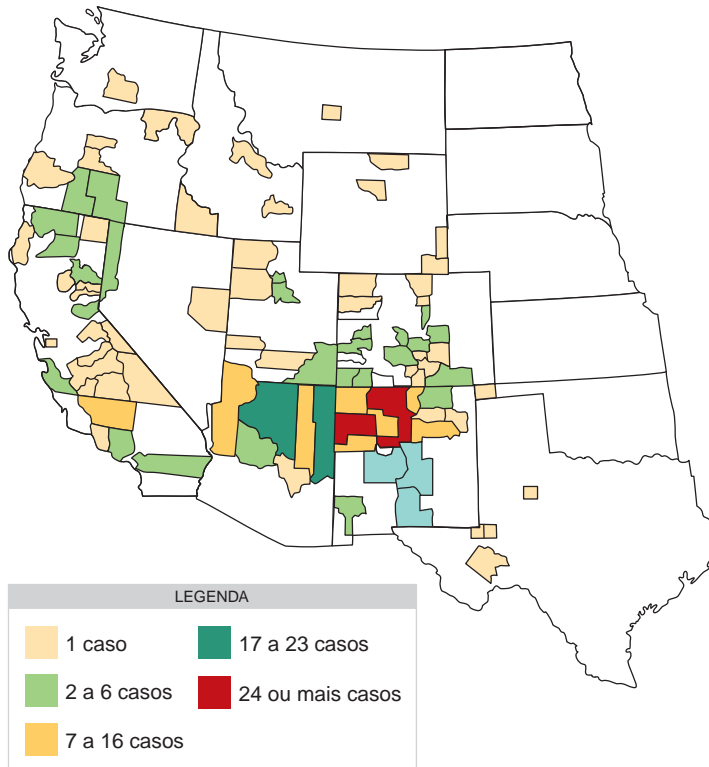



Figura 23.12 Distribuição geográfica da peste humana nos Estados Unidos, 1970-2004

Fonte: CDC, 2007.

P Que região mais próxima a você tem registros da peste?

Febre recorrente

Exceto para a espécie que causa a doença de Lyme (discutida a seguir), todos os membros do gênero da espiroqueta *Borrelia* causam a **febre recorrente**. Nos Estados Unidos, a doença é transmitida por carrapatos argasídeos que se alimentam de roedores. A incidência da febre recorrente aumenta durante os meses de verão, quando a atividade dos roedores e dos artrópodes aumenta.

A doença é caracterizada por febre, algumas vezes acima de 40,5°C, icterícia e manchas cor-de-rosa na pele. Depois de 3 a 5 dias, a febre diminui. Três ou quatro recorrências podem ocorrer, cada uma mais breve e menos intensa que a febre inicial. Cada recorrência é causada por um tipo antigênico diferente de espiroqueta, que escapa da imunidade existente. O diagnóstico é feito pela observação das bactérias no sangue do paciente, o que é incomum para uma doença por espiroquetas. A tetraciclina é eficaz para o tratamento.

Doença de Lyme (Borreliose de Lyme)

Em 1975, um grupo de casos de doenças em pessoas jovens, que foi inicialmente diagnosticado como artrite reumatoide, foi registrado perto da cidade de Lyme, no estado norte-americano de Connecticut. A ocorrência sazonal (meses de verão), ausência de contágio entre membros da família e descrições de uma erupção cutânea incomum que apareceu várias semanas antes dos primeiros sintomas sugeriram uma doença transmitida por carrapatos. Em 1983, uma espiroqueta que mais tarde foi chamada de *Borrelia burgdorferi* foi identificada como a causa. A **doença de Lyme** talvez seja hoje a doença transmitida por carrapatos mais comum nos Estados Unidos. Na Europa e na Ásia, a doença normalmente é conhecida como **borreliose de Lyme**. Geralmente nesses locais o carrapato e as espécies de *Borrelia* diferem daqueles nos Estados Unidos. Dezenas de milhares de casos são registrados a cada ano. Nos Estados Unidos, a doença de Lyme é mais prevalente na costa atlântica (**Figura 23.13**).

Camundongos silvestres são os reservatórios mais importantes. O estágio de ninfa do carrapato se alimenta dos camundongos infectados e apresenta maior probabilidade de infectar os seres humanos, embora carrapatos adultos sejam quase duas vezes mais prováveis de transportar o patógeno bacteriano. Isso ocorre porque as ninfas são pequenas e menos prováveis de serem notadas antes que a infecção seja transmitida. Os veados são importantes para a manutenção da doença, pois os carrapatos se alimentam e se acasalam neles. Entretanto, eles são menos prováveis que os camundongos de carregar ninfas ou infectá-las.

O carrapato (uma das duas espécies de *Ixodes*) se alimenta três vezes durante seu ciclo de vida (**Figura 23.14a**). A primeira e a segunda refeições, como larva e então como ninfa, geralmente são em um camundongo silvestre. A terceira alimentação, como adulto,

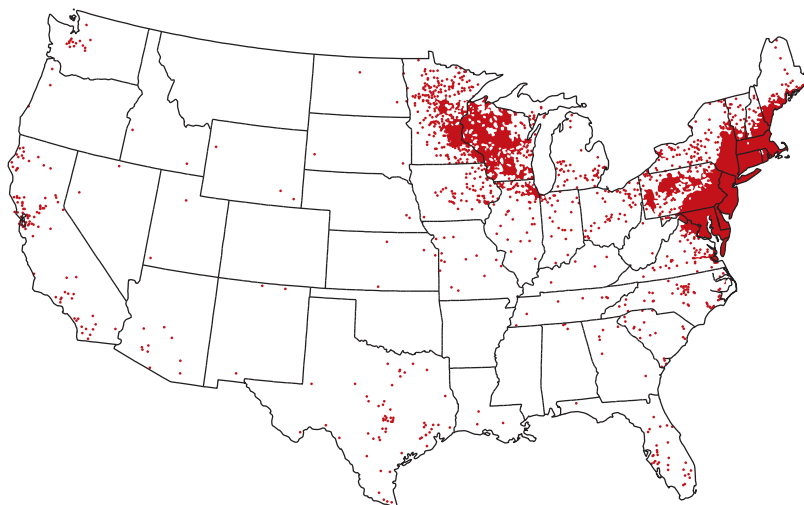



Figura 23.13 Doença de Lyme nos Estados Unidos, casos registrados por município, 2005.

Fonte: CDC, *MMWR* 56(23):575, 15 de junho de 2007.

P Que fatores são responsáveis pela distribuição geográfica da doença de Lyme?

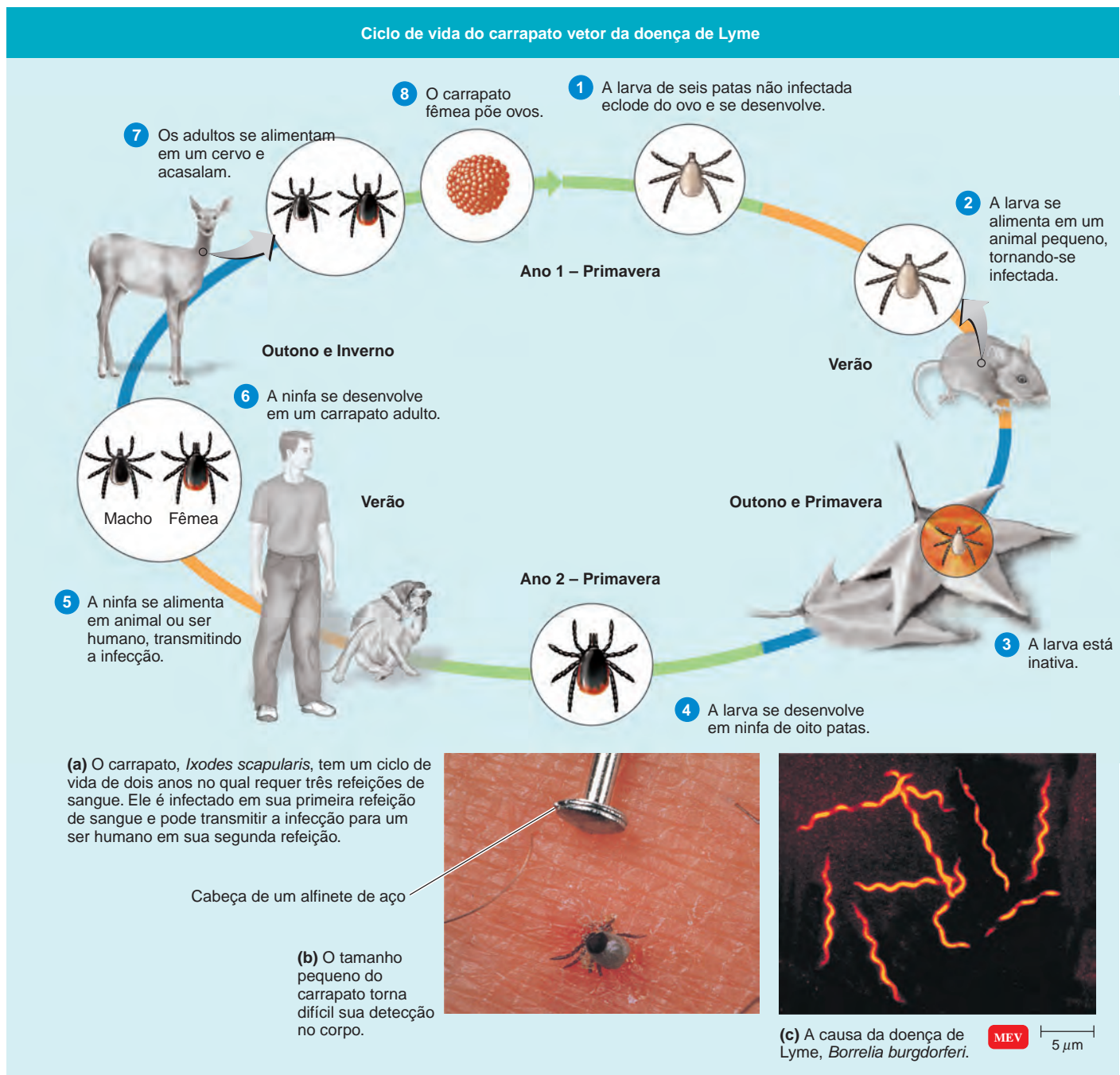



Figura 23.14 **Ciclo de vida do carrapato vetor da doença de Lyme.**

P **Que outras doenças são transmitidas por carrapatos?**

em geral é em um veado. Essas refeições estão separadas por vários meses, e a capacidade das espiroquetas de permanecerem viáveis nos camundongos silvestres tolerantes à doença é crucial para manter a doença na natureza.

Nos seres humanos, os carrapatos geralmente se aderem a partir de arbustos ou grama. Eles não se alimentam por 24 horas, e muitas vezes requerem 2 a 3 dias de fixação antes da transferência de bactérias da infecção. Provavelmente apenas cerca de 1% das picadas de carrapato resulte em doença de Lyme.

Na costa do Pacífico, o carrapato que transmite a doença de Lyme é o carrapato de pernas pretas do oeste *Ixodes pacificus* (veja também a Figura 12.31, página 362). No restante dos Estados Unidos, o *Ixodes scapularis* é o principal responsável. Esse carrapato é tão pequeno que geralmente nem é notado (**Figura 23.14b**). Na costa atlântica, quase todos os carrapatos *Ixodes* transportam as espiroquetas (**Figura 23.14c**); na costa do Pacífico, poucos estão infectados porque o carrapato se alimenta de lagartos que não transportam as espiroquetas efetivamente.

Figura 23.15 Erupção cutânea do tipo olho-de-boi, comum na doença de Lyme. A erupção não é sempre assim tão óbvia.

P Que sintomas ocorrem quando a erupção desaparece?

O primeiro sintoma da doença de Lyme geralmente é uma erupção cutânea que aparece no local da picada. É uma área vermelha que fica clara no centro à medida que se expande a um diâmetro final de cerca de 15 cm (**Figura 23.15**). Essa erupção distinta ocorre em cerca de 75% dos casos. Sintomas parecidos com os de gripe surgem em algumas semanas, à medida que a erupção desaparece. Antibióticos tomados durante esse intervalo são muito eficazes para limitar a doença.

Durante uma segunda fase, na ausência de tratamento eficaz, muitas vezes há evidências de que o coração é afetado. O batimento cardíaco pode se tornar tão irregular que um marcapasso é necessário. Sintomas neurológicos crônicos incapacitantes, como paralisia facial, meningite e encefalite, podem ser notados. Em uma terceira fase, meses ou anos mais tarde, alguns pacientes desenvolvem artrite, que pode afetá-los por anos. Respostas imunes à presença das bactérias provavelmente são a causa deste dano à articulação. Muitos dos sintomas da doença de Lyme de longa duração se assemelham aos dos estágios tardios da sífilis, também causada por uma espiroqueta.

O diagnóstico da doença de Lyme depende parcialmente dos sintomas e de um índice de suspeita com base na prevalência na região geográfica. Os médicos são advertidos de que os testes sorológicos devem ser interpretados em conjunto com os sintomas clínicos e a probabilidade de exposição à infecção. Os testes sorológicos são difíceis de interpretar, e após um ELISA positivo inicial (página 514) ou teste de anticorpo fluorescente indireto (FA) (página 513), o diagnóstico deve ser confirmado com o teste de *Western blot* (página 516). Também, depois que o tratamento eficaz com antibióticos eliminar as bactérias, anticorpos – até mesmo anticorpos IgM – geralmente persistem por anos e podem confundir tentativas posteriores de diagnóstico.

Vários antibióticos são eficazes para o tratamento da doença, embora, nos estágios mais tardios, grandes quantidades possam ser necessárias.

Erliquiose e anasplamose

A **erliquiose monocítica humana** (**HME**, de *human monocytotropic ehrlichiosis*) é causada pela *Ehrlichia chafeensis*. Esta é uma bactéria gram-negativa, do tipo riquétsia, intracelular obrigatória. Agregados de bactérias – chamados de *mórula*, palavra em latim para amoreira – se formam dentro do citoplasma de monócitos. *E. chafeensis* foi observada pela primeira vez em um caso humano em 1986, anteriormente era considerada um patógeno unicamente veterinário. A HME é uma doença transmitida por carrapatos; o nome comum para o vetor em geral é carrapato da Estrela Solitária. Existem casos em que este carrapato não é encontrado, de modo que haveria outros vetores. O veado de cauda branca é o principal reservatório animal, mas não mostra sinais da doença.

Uma doença similar transmitida por carrapatos, a **anasplamose granulocítica humana** (**HGA**, de *human granulocytic anaplasmosis*), era chamada de *erliquiose granulocítica humana*. A mudança ocorreu quando um organismo causador, uma bactéria intracelular obrigatória antigamente agrupada com a *Ehrlichia*, foi renomeado *Anaplasma phagocytophilum*. O carrapato vetor é o *Ixodes scapularis*, o mesmo gênero do vetor da doença de Lyme e da babesiose (página 350).

Os sintomas dessas doenças são idênticos, e a HGA somente foi identificada quando um caso ocorreu em Wisconsin, onde o carrapato da Estrela Solitária era desconhecido. Os pacientes sofrem de uma doença parecida com a gripe, com febre alta e cefaleia; há uma taxa de fatalidade importante (menos de 5%). As doenças provavelmente ocorrem com uma frequência muito mais alta que o registrado. Casos de HME e HGA são difundidos e algumas vezes se sobrepõem geograficamente. Uma vez que uma doença ou outra é suspeitada (geralmente da detecção de mórulas nos esfregaços sanguíneos), o diagnóstico em geral pelo teste FA indireto para HME e pelo teste da reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) (página 251) para a HGA. A terapia com antibióticos como a tetraciclina geralmente é eficaz.

Tifo

As várias doenças de tifo são causadas por riquétsias, bactérias que são parasitas intracelulares obrigatórios de eucariotos. As riquétsias, que são propagadas por vetores artrópodes, infectam principalmente as células endoteliais do sistema vascular e se multiplicam dentro delas. A inflamação resultante causa o bloqueio local e a ruptura de vasos sanguíneos pequenos.

Tifo epidêmico. O **tifo epidêmico** (tifo transmitido por piolho) é causado pela *Rickettsia prowazekii* e carregado pelo piolho do corpo humano *Pediculus humanus corporis* (veja a Figura 12.32a, página 363). O patógeno cresce no trato gastrintestinal do piolho e é excretado por ele. Ele é transmitido no momento em que as fezes do piolho são esfregadas no ferimento quando o hospedeiro coça a picada. A doença somente pode florescer em condições de aglomeração e má higiene, quando os piolhos podem se transferir facilmente de um hospedeiro infectado para um novo hospedeiro. Anne Frank, a adolescente que escreveu o famoso diário durante a Segunda Guerra Mundial, morreu de tifo contraído por causa das condições dos campos de concentração.

A doença do tifo epidêmico produz uma febre alta e prolongada que dura pelo menos duas semanas. Estupor e uma erupção de

pequenas bolhas vermelhas causadas por hemorragia subcutânea são característicos, à medida que as riquétsias invadem os revestimentos dos vasos sanguíneos. As taxas de mortalidade são muito altas quando a doença não é tratada.

A tetraciclina e o cloranfenicol geralmente são eficazes contra o tifo epidêmico, mas a eliminação das condições em que a doença floresce é mais importante. O micróbio é considerado muito perigoso, e tentativas de cultivá-lo requerem cuidado extremo. Vacinas estão disponíveis para as populações militares, que historicamente têm sido altamente suscetíveis à doença.

Tifo endêmico murino. O **tifo endêmico murino** ocorre de modo esporádico em vez de epidêmico. O termo *murino* (derivado do latim para camundongo) refere-se ao fato de que roedores, como os ratos e os esquilos, são os hospedeiros comuns desse tipo de tifo. O tifo endêmico murino é transmitido pela pulga de rato *Xenopsylla cheopis* (veja a Figura 12.32b, página 363), e o patógeno responsável pela doença é a *Rickettsia typhi*, um habitante comum de ratos. Com uma taxa de mortalidade menor que 5%, a doença é consideravelmente menos grave que a forma epidêmica do tifo. Exceto pela gravidade reduzida da doença, o tifo endêmico murino é clinicamente indistinguível do tifo epidêmico. Tetraciclina e cloranfenicol são tratamentos eficazes para o tifo endêmico murino, e o controle dos ratos é a melhor medida preventiva.

Febres maculosas. O tifo transmitido por carrapatos, ou **febre maculosa das Montanhas Rochosas**, provavelmente é a doença de riquétsias mais conhecida nos Estados Unidos. Ela é causada pela *Rickettsia rickettsi*. Apesar de seu nome (foi reconhecida pela primeira vez na região das Montanhas Rochosas), ela é mais comum nos estados do sudeste e nos Apalaches (**Figura 23.16**). Esta riquétsia é um parasita de carrapatos e geralmente é transmitida de uma geração de carrapatos para outra através de seus ovos, um mecanismo chamado de *transferência transovariana* (**Figura 23.17**). Pesquisas mostram que em áreas endêmicas talvez 1 em cada 1.000 carrapatos esteja infectado. Em diferentes regiões dos Estados Unidos, diferentes carrapatos estão envolvidos – no oeste, o carrapato da madeira *Dermacentor andersoni*; no leste, o carrapato de cães *Dermacentor variabilis*.

Cerca de uma semana após a picada, uma erupção macular se desenvolve, algumas vezes confundida com o sarampo (**Figura 23.18**); entretanto, ela geralmente aparece na palma das mãos e na sola dos pés, onde as erupções virais não ocorrem. A erupção é acompanhada por febre e cefaleia. A morte, que ocorre em cerca de 3% dos aproximadamente 1.000 casos registrados a cada ano, geralmente é causada por insuficiência renal e cardíaca.

Os testes sorológicos não se tornam positivos até uma fase tardia da doença. O diagnóstico antes da erupção típica é difícil; os sintomas variam amplamente. Além disso, em pessoas de pele escura, a erupção é difícil de ser vista. Um diagnóstico incorreto pode custar caro; se o tratamento não for imediato e correto, a taxa de mortalidade é de cerca de 20%.

Antibióticos como a tetraciclina e o cloranfenicol são muito eficazes se administrados suficientemente cedo. Nenhuma vacina está disponível.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a pulga infectada da peste é tão ansiosa para se alimentar em um mamífero? 23-10

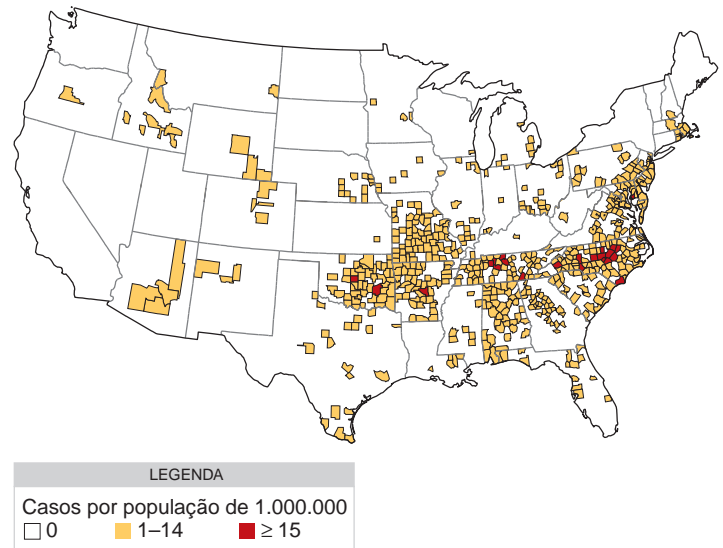



Figura 23.16 **Distribuição geográfica da febre maculosa das Montanhas Rochosas (tifo transmitido por carrapatos) nos Estados Unidos, 1997-2002.**

Fonte: CDC, 2007.

P **Geograficamente, esta é uma doença urbana ou rural?**

✓ De que animal o carrapato infectado se alimenta logo antes de transmitir a doença de Lyme para um ser humano? 23-11

✓ Que doença é transmitida por carrapatos: tifo epidêmico, tifo endêmico murino ou febre maculosa das Montanhas Rochosas? 23-12

Doenças virais dos sistemas cardiovascular e linfático

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

23-13 Descrever as epidemiologias do linfoma de Burkitt, da mononucleose infecciosa e da doença de inclusão citomegálica.

23-14 Comparar e contrastar os agentes causadores, os vetores, os reservatórios e os sintomas da febre amarela, da dengue, da dengue hemorrágica e da febre de chikungunya.

23-15 Comparar e contrastar os agentes causadores, os reservatórios e os sintomas da febre Ebola hemorrágica e da síndrome pulmonar do *Hantavirus*.

Os vírus causam várias doenças cardiovasculares e linfáticas, predominantes principalmente nas regiões tropicais. Entretanto, uma doença viral deste tipo, a mononucleose infecciosa, é uma doença infecciosa em especial entre os norte-americanos em universidades.

Linfoma de Burkitt

Na década de 1950, Denis Burkitt, um médico irlandês trabalhando no leste da África, notou a ocorrência frequente em crianças de um tumor de crescimento rápido da mandíbula (**Figura 23.19**). Conhecido como **linfoma de Burkitt**, este é o câncer infantil mais comum na África. Ele tem uma distribuição geográfica limitada, similar à da malária, na África central.

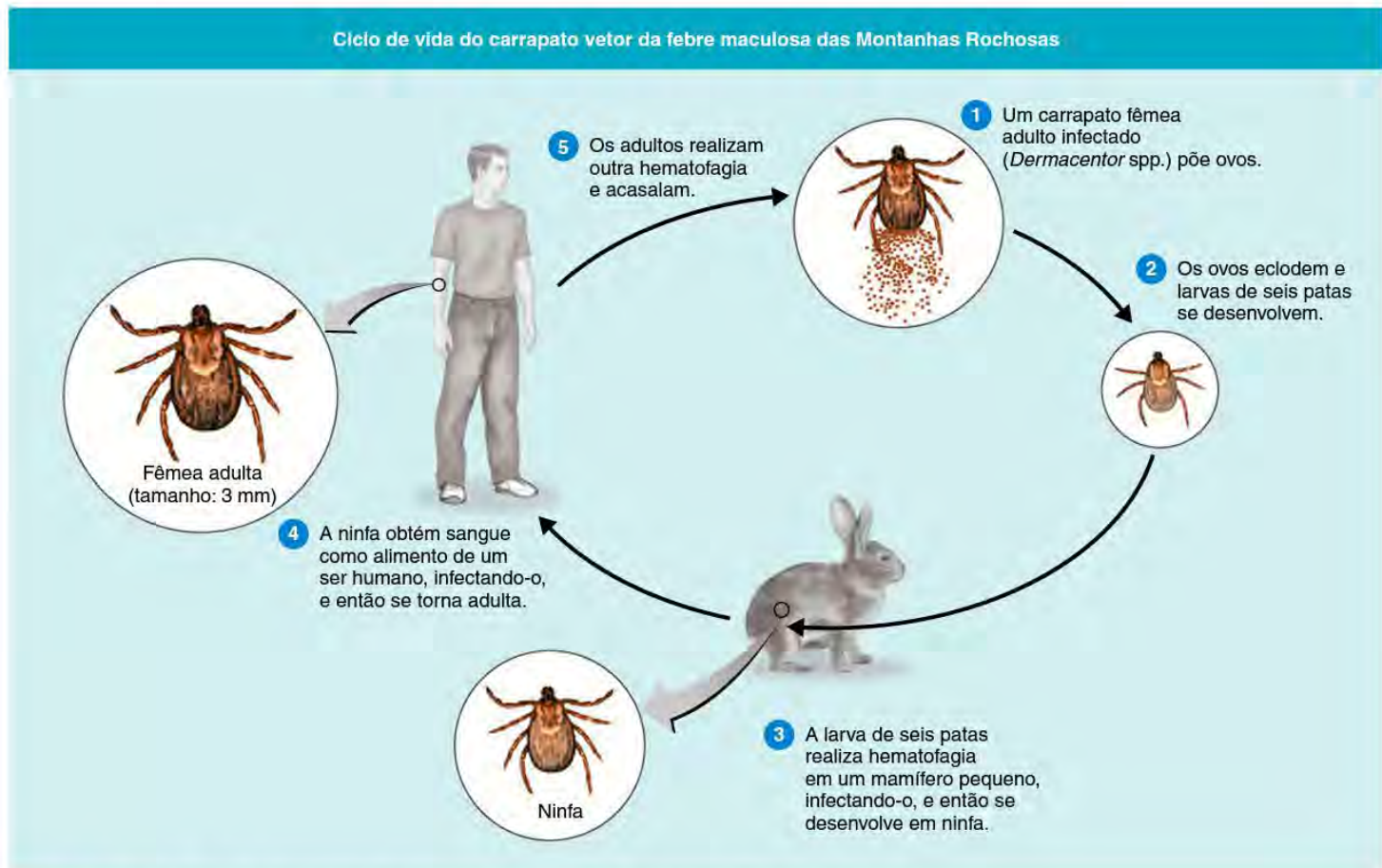



Figura 23.17 O ciclo de vida do carrapato vetor (*Dermacentor* spp.) da febre maculosa das Montanhas Rochosas. Os mamíferos não são essenciais para a sobrevivência do patógeno, *Rickettsia rickettsi*, na população de carrapatos; as bactérias podem ser transmitidas para outro carrapato por transferência transovariana, de modo que novos carrapatos são infectados após a incubação. Uma refeição de sangue é requerida para que os carrapatos avancem para o próximo estágio no ciclo de vida.

P O que significa *transferência transovariana*?

Burkitt suspeitou de uma causa viral do tumor e de um mosquito vetor. Naquela época, não se conhecia nenhum vírus que causasse câncer humano, embora vários vírus tivessem sido claramente associados a câncer em animais. Intrigados por esta possibilidade, em 1964 o virologista britânico Tony Epstein e sua aluna Yvonne Barr realizaram biópsias nos tumores. Um vírus foi cultivado deste material, e a microscopia eletrônica revelou um vírus semelhante ao herpes nas células em cultura; ele foi denominado *vírus Epstein-Barr* (*vírus EB*). O nome oficial deste vírus é herpesvírus humano 4.

O vírus EB está nitidamente associado ao linfoma de Burkitt, porém o mecanismo pelo qual ele causa o tumor não é compreendido. Pesquisas mostraram, entretanto, que os mosquitos não transmitem o vírus ou a doença. Em vez disso, as infecções de malária transmitidas pelo mosquito aparentemente aceleram o desenvolvimento do linfoma de Burkitt, prejudicando a resposta imune ao vírus EB, que está presente nos adultos humanos ao redor do mundo. O vírus tem, na realidade, se adaptado tão bem aos seres humanos que é um de nossos parasitas mais eficazes. Ele estabelece uma infecção que dura a vida inteira na maioria das pessoas (Figura 23.20) e que é inofensiva e raramente causa doença.

Em regiões sem malária endêmica, como nos Estados Unidos, o linfoma de Burkitt é raro e geralmente abdominal. O aparecimento do linfoma em pacientes com Aids é uma indicação da importância da vigilância imune para prevenir a manifestação da doença.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Embora não seja uma doença com um inseto vetor, por que o linfoma de Burkitt é mais comumente encontrado em regiões com malária? **23-13**

Mononucleose infecciosa

A identificação do vírus EB como causa da **mononucleose infecciosa**, ou *mono*, resultou de uma das descobertas acidentais que geralmente causam avanços na ciência. Uma técnica de laboratório investigando o vírus EB serviu como controle negativo para o vírus. Enquanto estava de férias, ela contraiu uma infecção caracterizada por febre, dor de garganta, linfonodos inchados no pescoço e fraqueza generalizada. O aspecto mais interessante da doença da técnica foi que ela agora era sorologicamente positiva para o vírus

Figura 23.18 As erupções causadas pela febre maculosa das Montanhas Rochosas. Essas erupções muitas vezes são confundidas com o sarampo. Pessoas de pele escura apresentam uma alta taxa de mortalidade, pois as erupções muitas vezes não são reconhecidas cedo o bastante para um tratamento eficaz.

P Como a febre maculosa das Montanhas Rochosas pode ser prevenida?

EB. Logo foi confirmado que o mesmo vírus que está associado ao linfoma de Burkitt também causa quase todos os casos de mononucleose infecciosa.

Nos países desenvolvidos, a infecção com o vírus EB ocorre na infância, e 90% das crianças com mais de quatro anos possuem anticorpos. Quase 20% dos adultos nos Estados Unidos portam o vírus EB nas secreções orais. As infecções pelo vírus EB na infância geralmente são assintomáticas, mas se a infecção não ocorre até o início da fase adulta, como em geral é o caso dos Estados Unidos, o resultado é uma doença mais sintomática, provavelmente devido a uma intensa resposta imunológica. O pico de incidência da doença nos Estados Unidos ocorre em torno dos 15 aos 25 anos. Uma das causas principais das mortes raras é a ruptura do baço dilatado (uma resposta comum a uma infecção sistêmica) durante atividade vigorosa. A recuperação final se estabelece em algumas semanas, e a imunidade é permanente.

A via comum da infecção é pela transferência de saliva pelo beijo ou, por exemplo, pelo compartilhamento de copos. Ela não se propaga entre contatos casuais de pessoas dentro de casa, de modo que a transmissão por aerossol é improvável. O período de incubação antes do aparecimento dos sintomas é de 4 a 7 semanas.

O vírus EB mantém uma infecção persistente na orofaringe (boca e garganta), que é responsável por sua presença na saliva. É provável que as células B de memória em repouso (veja a Figura 17.5, página 483) localizadas no tecido linfoide sejam o principal local de replicação e persistência. A maioria dos sintomas é atribuída às respostas das células T à infecção.

A doença é denominada *mononucleose* porque linfócitos com núcleo lobulado incomum se proliferam no sangue durante a infecção aguda. As células B infectadas produzem anticorpos inespecíficos chamados de anticorpos heterófilos. Se esse teste for negativo, os sintomas podem ser causados por citomegalovírus (veja a página 658) ou várias outras condições clínicas. Um teste com anticorpo fluorescente que detecta anticorpos IgM contra o vírus EB é o método diagnóstico mais eficaz. Não há terapia específica recomendada para a maioria dos pacientes.

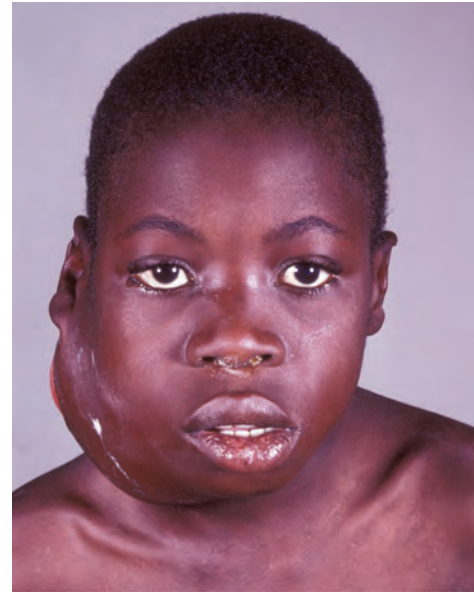



Figura 23.19 Uma criança com linfoma de Burkitt. Os tumores cancerosos da mandíbula causados pelo vírus Epstein-Barr (vírus EB) são vistos principalmente em crianças. Essa criança foi tratada com sucesso.

P Qual é a relação entre as regiões com malária e as regiões com o linfoma de Burkitt?

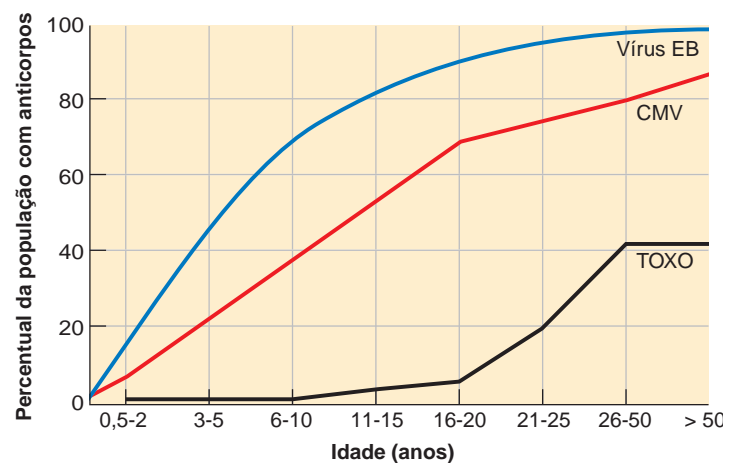



Figura 23.20 Prevalência típica de anticorpos contra o vírus Epstein-Barr (vírus EB), o citomegalovírus (CMV) e o *Toxoplasma gondii* (TOXO) por idade nos Estados Unidos.

Fonte: Laboratory Management, junho de 1987, p. 23ff.

P A julgar por esse gráfico, qual dessas doenças é a mais provável de resultar em infecções logo na infância?

Outras doenças e vírus Epstein-Barr

Foram apresentadas duas doenças, o linfoma de Burkitt e a mononucleose infecciosa, com nítida associação ao vírus EB. Existe

uma lista muito extensa de doenças que podem ter uma relação, ainda não comprovada, com o vírus EB. Algumas mais familiares incluem a **esclerose múltipla** (ataque autoimune sobre o sistema nervoso), a **doença de Hodgkin** (tumores do baço, dos linfonodos ou do fígado) e o **câncer nasofaríngeo** (nariz e faringe) entre certos grupos étnicos no sudeste da Ásia e Inuits.

Infecções por citomegalovírus

Quase todos nós seremos infectados pelo citomegalovírus (CMV) em algum momento de nossa vida. O CMV é um herpesvírus muito grande que, semelhante ao vírus EB, permanece latente nas células brancas do sangue, como monócitos, neutrófilos e células T. Ele não é muito afetado pelo sistema imune, replicando-se muito devagar e escapando da ação do anticorpo ao se mover entre as células que estão em contato. Os portadores do vírus podem excretá-lo em secreções corporais como a saliva, o sêmen e o leite materno. Quando o CMV infecta uma célula, ele causa a formação de corpúsculos de inclusão que são visíveis sob microscópio. Quando esses corpúsculos ocorrem em pares, eles são conhecidos como "olhos de coruja" e são úteis no diagnóstico. Esses corpúsculos de inclusão foram registrados pela primeira vez em 1905 em certas células de crianças recém-nascidas apresentando anormalidades congênitas. As células também estavam dilatadas, uma condição conhecida como *citomegalia*, da qual o vírus finalmente recebeu seu nome. Essa doença do recém-nascido passou a ser chamada *doença de inclusão citomegálica* (*CID*, de *cytomegalic inclusion disease*). Pensava-se que os corpúsculos de inclusão eram originalmente estágios no ciclo de vida de um protozoário, e uma causa viral da doença não foi proposta até 1925. O CMV não foi isolado até cerca de 30 anos depois. O nome oficial é herpesvírus 5.

Nos Estados Unidos, aproximadamente 8.000 lactentes a cada ano nascem apresentando dano sintomático da CID, sendo que o mais grave deles inclui retardo mental severo ou perda de audição. Se a mãe já se encontra infectada antes de dar à luz, a taxa de transmissão para o feto é menor que 2%, mas, se a infecção primária ocorre durante a gravidez, a taxa de transmissão é de 40 a 50%. Testes para determinar o estado imune da mãe estão disponíveis, sendo recomendado que os médicos determinem o estado imune das pacientes em idade fértil. Todas as mulheres não imunes devem ser informadas sobre os riscos de infecção durante a gravidez.

Em adultos sadios, a contração de uma infecção por CMV não causa sintomas ou apenas sintomas que se assemelham a um caso leve de mononucleose infecciosa. Diz-se que, se os CMVs fossem acompanhados por erupções cutâneas, a doença seria uma das doenças mais conhecidas. Portanto, não é surpresa, estimando-se que 80% da população norte-americana é portadora do vírus, que o CMV é um patógeno oportunista em pessoas cujo sistema imunológico esteja comprometido. A Figura 23.20 mostra a prevalência de anticorpos contra o CMV, o vírus EB e o *Toxoplasma gondii* (página 661). Em países em desenvolvimento, as taxas de infecção por CMV se aproximam de 100%. Para as pessoas imunocomprometidas, o CMV é uma causa frequente de pneumonia com risco à vida, porém quase nenhum órgão pode ser afetado. Cerca de 85% dos pacientes com Aids exibem uma infecção ocular causada por CMV, a *retinite por citomegalovírus*. Sem tratamento, ocorre perda da visão. Vários agentes antivirais, como o ganciclovir e a droga antissenso fomivirsen, são eficazes, porém o tratamento deve ser pela vida inteira. Essas drogas antivirais também são usadas para tratar outras doenças causadas por CMV.

O CMV é transmitido principalmente por atividades que resultam em contato com fluidos corporais contendo o vírus, como o beijo, e é muito comum entre crianças em creches. Ele pode ser transmitido sexualmente, por transfusão de sangue e por tecido transplantado. A transmissão por transfusão de sangue pode ser eliminada pela filtragem das células brancas ou por teste sorológico do doador para o vírus. O tecido transplantado geralmente é testado para o vírus, e produtos que contêm anticorpos para neutralizar o CMV presente no tecido doado estão agora disponíveis. Vacinas estão sendo desenvolvidas, mas nenhuma está disponível atualmente.

Febre de chikungunya

A introdução recente do vírus do Oeste do Nilo nos Estados Unidos mostrou que uma doença tropical transmitida por mosquito pode se propagar em climas temperados. Viagens rápidas e o aquecimento climático, entre outros fatores, estão tornando as doenças transportadas por vetores similares um fenômeno global. Outra doença tropical que agora traz preocupação é a **febre chikungunya**. O nome vem de uma língua africana e significa "aquilo que se inclina". Os sintomas são febre alta e severa e dores articulares intensas – principalmente nos pulsos, nos dedos e nos tornozelos – que podem persistir por semanas ou meses. Existe geralmente um exantema e até mesmo bolhas enormes. A taxa de morte é muito baixa. O vetor é o mosquito *Aedes*, em especial o *Aedes aegypti*, que propaga amplamente a doença na Ásia e na África. Surtos recentes também foram causados pelo *A. albopictus*. Uma mutação no vírus, que está relacionada ao vírus que causa a encefalite equina ocidental (WEE, de *western equine encephalitis*) e a encefalite equina oriental (EEE, de *eastern equine encephalitis*) (página 624), tem se adaptado a ele para se multiplicar no inseto. É incerto se existe um reservatório animal. Um surto já ocorreu na Itália.

A. albopictus também é conhecido como mosquito tigre asiático por causa de suas listras brancas brilhantes. Bem adaptado aos assentamentos urbanos, ele também sobrevive aos climas frios, podendo finalmente se estabelecer até mesmo em regiões do norte dos Estados Unidos e nas regiões costeiras da Escandinávia. Devido ao fato de ser um animal de hábitos diurnos extremamente agressivo, ele é uma perturbação séria nas atividades ao ar livre. De grande preocupação para os profissionais de saúde é que o *A. albopictus* é conhecido, até agora, por transmitir as febres chikungunya e a dengue, uma doença discutida em breve.

Febres hemorrágicas virais clássicas

As febres hemorrágicas são, em sua maioria, doenças zoonóticas; elas aparecem em seres humanos apenas a partir do contato infeccioso com seus hospedeiros animais normais. Algumas delas já são conhecidas do ponto de vista médico há tanto tempo que são consideradas febres hemorrágicas "clássicas". A primeira delas é a

febre amarela. O vírus da febre amarela é injetado na pele por um mosquito, o *A. aegypti*.

Nos estágios iniciais dos casos graves da doença, a pessoa apresenta febre, calafrios e cefaleia, seguidos de náusea e vômito. Esse estágio é seguido por icterícia, uma cor amarelada da pele que dá à doença seu nome. Essa coloração reflete lesão ao fígado, que resulta em depósito dos pigmentos da bile na pele e nas membranas mucosas. A taxa de mortalidade da febre amarela é alta, cerca de 20%.

A febre amarela ainda é endêmica em muitas áreas tropicais, como América Central, América do Sul tropical e África Central. Por um tempo, a doença foi endêmica nos Estados Unidos e ocorria tanto no extremo norte quanto na Filadélfia. O último caso de febre amarela ocorreu em Louisiana em 1905, durante um surto, que resultou em aproximadamente mil mortes. As campanhas de erradicação do mosquito iniciadas pelo médico militar Walter Reed foram eficazes em eliminar a febre amarela nos Estados Unidos.

Os macacos são um reservatório natural para os vírus, mas a transmissão entre as pessoas pode manter a doença. O controle local dos mosquitos e a imunização da população exposta são controles eficazes em áreas urbanas.

O diagnóstico geralmente é feito pelos sinais clínicos, mas pode ser confirmado pelo aumento no título de anticorpos ou isolamento do vírus no sangue. Não há tratamento específico para a febre amarela. A vacina é uma cepa viral viva atenuada e produz uma imunidade muito eficaz.

A **dengue** é uma doença viral semelhante, porém mais branda, também transmitida por mosquitos. Essa doença é endêmica no Caribe e em outros ambientes tropicais, onde um número estimado em 100 milhões de casos ocorre a cada ano. Ela é caracterizada por febre, dor muscular e articular severa e exantema. Exceto pelos sintomas dolorosos, que levaram ao nome de **febre quebra-ossos**, a dengue clássica é uma doença relativamente branda e raramente fatal.

Os países vizinhos do Caribe estão registrando um aumento no número de casos de dengue. Anualmente, mais de 100 casos são importados para os Estados Unidos, em especial por viajantes do Caribe e da América do Sul. A doença parece não ter um reservatório animal. O mosquito vetor da dengue é comum nos estados do Golfo, e existe uma certa preocupação de que o vírus mais cedo ou mais tarde seja introduzido nesta região e se torne endêmico. Profissionais de saúde estão preocupados com a introdução de um mosquito asiático, o *A. albopictus* (veja a página 658), um vetor eficiente para o vírus. Medidas de controle são direcionadas para a eliminação dos mosquitos *Aedes*.

Uma forma grave da dengue, a **febre hemorrágica** *por dengue* (DHF, de *dengue hemorrhagic fever*), provavelmente seja causada quando os anticorpos de uma infecção anterior se combinam com o vírus. A DHF pode induzir choque séptico na vítima (geralmente uma criança) e matar dentro de poucas horas. Ela é a principal causa de morte entre as crianças do sudeste da Ásia. Surtos também têm ocorrido no México, na América do Sul e no Caribe.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que o mosquito *Aedes albopictus* é uma preocupação em particular para as populações de climas temperados? **23-14**

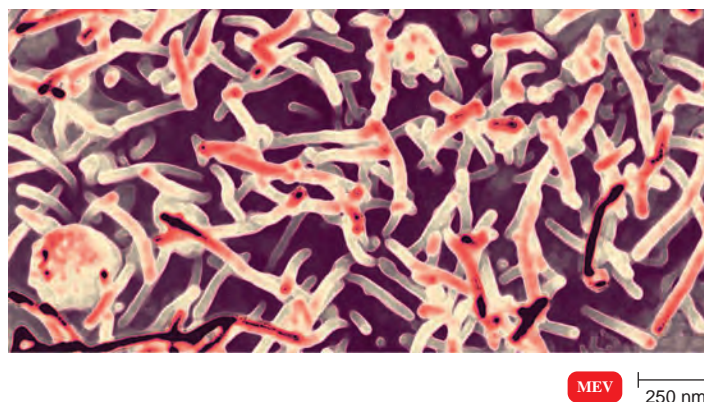



Figura 23.21 Vírus Ebola hemorrágico. Os vírus que causam a febre hemorrágica por Ebola são mostrados aqui. Eles perturbam o sistema de coagulação sanguínea.

P **Você pode perceber por que o vírus Ebola é chamado de filovírus?**

Febres hemorrágicas virais emergentes

P&R Outras doenças hemorrágicas são consideradas novas ou "emergentes". Em 1967, 31 pessoas adoeceram e sete morreram após contato com alguns macacos africanos que foram importados para a Europa. O vírus tinha uma forma estranha, em filamento (filovírus), e foi denominado de acordo com o local do surto, **Marburg**, na Alemanha. Os sintomas da infecção pelos vírus hemorrágicos são inicialmente brandos, cefaleia e dor muscular. Contudo, depois de alguns dias, a vítima apresenta febre alta e começa a vomitar sangue e sangrar internamente e por aberturas externas como o nariz e os olhos. Morte ocorre em alguns dias de insuficiência dos órgãos e choque.

Uma febre hemorrágica semelhante, a **febre Lassa**, apareceu na África em 1969 e foi rastreada até um reservatório roedor. O vírus, um arenavírus, está presente na urina do roedor e é a fonte das infecções humanas. Os surtos da febre Lassa mataram milhares de pessoas. Sete anos após seu surgimento, surtos na África de uma outra febre hemorrágica altamente letal, causada por um filovírus similar ao vírus Marburg, causaram uma doença com uma mortalidade que se aproximava de 90%. Denominada **Ebola**, o nome de um rio local, esta agora é uma doença bem divulgada, tema de filmes e livros (Figura 23.21).

O hospedeiro natural para o vírus Ebola provavelmente seja um morcego, que é usado como alimento e não é muito infectado pelo vírus que ele carrega. Uma vez que um ser humano seja infectado e perca sangue, a infecção é propagada pelo contato com o sangue e os fluidos corporais e, em muitos casos, pela reutilização de agulhas usadas em pacientes. O costume local de lavar o corpo antes de enterrar geralmente desencadeia novas infecções.

A América do Sul apresenta várias febres hemorrágicas causadas pelos vírus do tipo Lassa (arenavírus) que são mantidos na população de roedores. As **febres hemorrágicas Boliviana** e **Argentina** são transmitidas em áreas rurais pelo contato com as excreções dos roedores. Muitas mortes recentes na Califórnia foram atribuídas ao **vírus Whitewater Arroyo**, um arenavírus com ratos silves-

DOENÇAS EM FOCO 23.4

MET 75 nm

Pequenos vírus vistos por microscopia eletrônica nos tecidos da paciente. Após isolamento, eles foram identificados como vírus de RNA de fita simples da família *Flaviviridae*.

Febres hemorrágicas virais

As febres hemorrágicas virais são endêmicas em países tropicais, onde, exceto pela dengue, são encontradas em pequenos mamíferos. Entretanto, as crescentes viagens internacionais ocasionaram a importação desses vírus para os Estados Unidos. Não há tratamento.

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. O setor de Patógenos Especiais do CDC tem instalações de confinamento especializadas para confirmar o diagnóstico de febres hemorrágicas virais através de sorologia, ácidos nucleicos e cultivo de vírus. Use a tabela para identificar a causa de um exantema e dor articular severa em uma mulher de 20 anos.

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Sintomas	Reservatório	Modo de transmissão	Prevenção
Febre amarela	Flavivírus (vírus da febre amarela)	Pele	Febre, calafrios, cefaleia; icterícia	Macacos	*Aedes aegypti*	Vacinação; controle do mosquito
Dengue	Flavivírus (vírus da dengue)	Pele	Febre, dor muscular e articular, exantema	Humanos	*Aedes aegypti*; *A. albopictus*	Controle do mosquito
Febres hemorrágicas virais emergentes (Marburg, Ebola, Lassa)	Filovírus, arenavírus	Membranas mucosas	Sangramento profuso	Possivelmente morcegos-das-frutas e outros mamíferos pequenos	Contato com sangue	Nenhuma
Síndrome pulmonar por *Hantavirus*	Bunyavírus (hantavírus Sin Nombre)	Trato respiratório	Pneumonia	Camundongos silvestes	Inalação	Nenhuma

tres como reservatório. Esses casos são os primeiros registros de doença hemorrágica causada por arenavírus no Hemisfério Norte.

A **síndrome pulmonar por *Hantavirus*,** causada pelo vírus *Sin Nombre,** um bunyavírus, se tornou bem conhecida nos Estados Unidos devido aos muitos surtos, principalmente nos estados do oeste. Ela se manifesta como uma infecção pulmonar frequentemente fatal, na qual os pulmões se enchem de fluidos. Na realidade, as doenças dessa natureza apresentam uma longa história, em particular na Ásia e na Europa. Ela é mais conhecida nesses locais como **febre hemorrágica com síndrome renal** e afeta principalmente a função renal. Todas essas doenças relacionadas são transmitidas pela inalação dos vírus da urina e das fezes secas de pequenos roedores infectados.

* O vírus que causou o surto pulmonar de hantavírus em 1993 na área de Four Corners no sudoeste dos Estados Unidos (Arizona, Utah, Colorado e Novo México) foi originalmente chamado de vírus Four Corners. Autoridades locais ficaram preocupadas com o efeito desse nome sobre o turismo na região e reclamaram. O nome *Sin Nombre*, que em espanhol significa sem nome, foi então adotado.

O quadro doenças em Foco 23.4 descreve as várias febres hemorrágicas virais.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A que doença a febre hemorrágica Ebola mais se assemelha: febre Lassa ou síndrome pulmonar por hantavírus? **23-15**

Doenças protozoóticas dos sistemas cardiovascular e linfático

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

23-16 Comparar e contrastar os agentes causadores, os modos de transmissão, os reservatórios, os sintomas e os tratamentos da doença de Chagas, da toxoplasmose, da malária, da leishmaniose e da babesiose.

23-17 Discutir os efeitos mundiais dessas doenças na saúde humana.

Os protozoários que causam as doenças dos sistemas cardiovascular e linfático geralmente apresentam ciclos de vida complexos, e sua presença pode afetar seriamente os hospedeiros humanos.

Doença de Chagas (tripanossomíase americana)

A **doença de Chagas**, também conhecida como **tripanossomíase americana**, é uma doença parasitária do sistema cardiovascular. O agente causador é o *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado (**Figura 23.22**). O protozoário foi descoberto em seu inseto vetor pelo microbiologista brasileiro Carlos Chagas em 1910. Ele nomeou o protozoário em homenagem ao epidemiologista brasileiro Oswaldo Cruz. A doença ocorre na América Central e em regiões da América do Sul, onde infecta cronicamente um número estimado de 18 milhões e mata cerca de 50 mil pessoas a cada ano. Ela foi introduzida nos Estados Unidos pela migração da população. Em 2006, os bancos de sangue começaram a fazer triagem para a doença, uma prática que irá identificar muitos casos.

O reservatório para o *T. cruzi* é uma ampla variedade de animais selvagens, inclusive roedores, gambás e tatus. O artrópode vetor é o inseto reduvídeo, chamado de "barbeiro" porque geralmente pica próximo dos lábios das pessoas (veja a Figura 12.32d, página 363). Os insetos vivem em rachaduras e fendas de barro ou em choupanas com telhado de sapê. Os tripanossomos, que crescem no intestino do inseto, são transmitidos se ele defecar enquanto se alimenta. O ser humano ou o animal picado geralmente esfrega as fezes no ferimento ou outras abrasões da pele ao coçar, ou dentro do olho ao esfregá-lo. A infecção progride em estágios. O estágio agudo, caracterizado por febre e glândulas inchadas que duram algumas semanas, pode não causar alarme. Entretanto, 20 a 30% das pessoas infectadas irão desenvolver uma forma crônica da doença – em alguns casos, 20 anos mais tarde. Dano aos nervos que controlam as contrações peristálticas do esôfago ou do colo pode impedir o transporte do alimento. Isso faz com que esses órgãos fiquem muito dilatados, condições conhecidas como *megaesôfago* e *megacolo*. A maioria das mortes é causada por dano ao coração, que ocorre em cerca de 40% dos casos crônicos. As infecções de mulheres durante o estágio crônico podem resultar em infecções congênitas.

O diagnóstico em áreas endêmicas geralmente tem como base os sintomas. Na fase aguda, os tripanossomos algumas vezes podem serem detectados nas amostras de sangue. Durante a fase crônica, esses parasitas são indetectáveis – embora os pacientes possam transmitir a infecção por transfusões, transplantes e congenitamente. O diagnóstico da doença crônica depende dos testes sorológicos, que não são muito sensíveis ou específicos. Duas ou três amostragens repetidas podem ser requeridas.

Tratar a doença de Chagas é muito difícil quando os estágios crônicos progressivos são atingidos. O tripanossomo se multiplica intracelularmente, e é difícil de atingi-lo quimioterapicamente. As únicas drogas disponíveis atualmente são o nifurtimox e o benzonidazol, derivados de triazóis (veja a página 568). Descobriu-se que a terapia com o benzonidazol elimina a infecção em cerca de 60% das crianças infectadas. Essas drogas devem ser administradas por 30 a 60 dias, e nenhuma delas é eficaz durante o estágio crônico; ambas também apresentam graves efeitos colaterais.

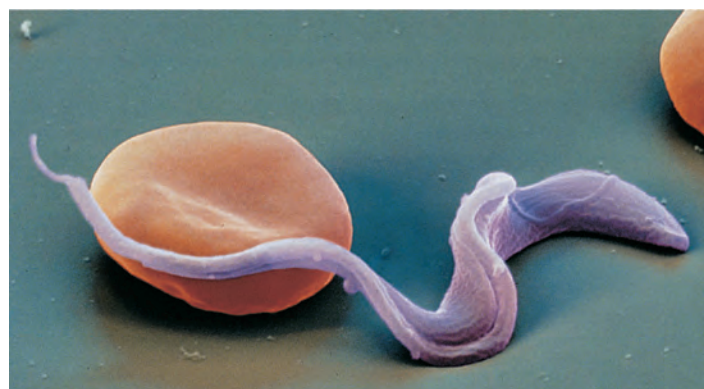



Figura 23.22 ***Trypanosoma cruzi*, a causa da doença de Chagas (tripanossomíase americana).** O tripanossomo apresenta uma membrana ondulante; o flagelo segue a margem mais externa da membrana e então se projeta além do corpo do tripanossomo como um flagelo livre. Observe as hemácias na foto.

P **Dê o nome de uma tripanossomíase comum que ocorre em outra região do mundo. (*Dica*: ela foi discutida no Capítulo 22.)**

Toxoplasmose

A **toxoplasmose**, uma doença dos vasos sanguíneos e linfáticos, é causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. *T. gondii* é um protozoário formador de esporos, assim como o parasita da malária.

Os gatos são uma parte essencial do ciclo de vida do *T. gondii* (**Figura 23.23**). Testes aleatórios em gatos urbanos mostraram que um grande número deles está infectado com o organismo, que não causa uma doença aparente no gato. (Uma curiosidade da infecção em roedores é que ela aparentemente faz com que eles percam seu comportamento normal de evitar os gatos, aumentando a probabilidade de serem pegos e então infectar o gato.) O micróbio sofre sua única fase sexuada no trato intestinal do gato. Milhões de oócitos são então liberados nas fezes do animal por 7 a 21 dias e contaminam o alimento ou a água, que podem ser ingeridos por outros animais. Os *oócitos* contêm *esporozoítos* que invadem as células do hospedeiro e formam trofozoítos chamados de *taquizoítos* (com o tamanho de uma grande bactéria, 2×7 μm). O parasita intracelular se reproduz rapidamente (*tachys* é uma palavra grega para rápido). Os números elevados causam a ruptura da célula hospedeira e a liberação de mais taquizoítos, resultando em uma forte resposta inflamatória.

À medida que o sistema imune torna-se cada vez mais eficaz, a doença entra na fase crônica em animais e seres humanos; a célula hospedeira infectada desenvolve uma parede para formar um *cisto tecidual*. Os numerosos parasitas dentro do cisto (neste estágio chamados de *bradizoítos*; *bradi*, do grego para lento) se reproduzem muito lentamente, quando o fazem, e persistem por anos, principalmente no cérebro. Esses cistos são infectivos quando ingeridos pelos hospedeiros intermediários ou definitivos.

Em pessoas com um sistema imune sadio, a infecção de toxoplasmose resulta apenas em sintomas muito leves ou é assinto-

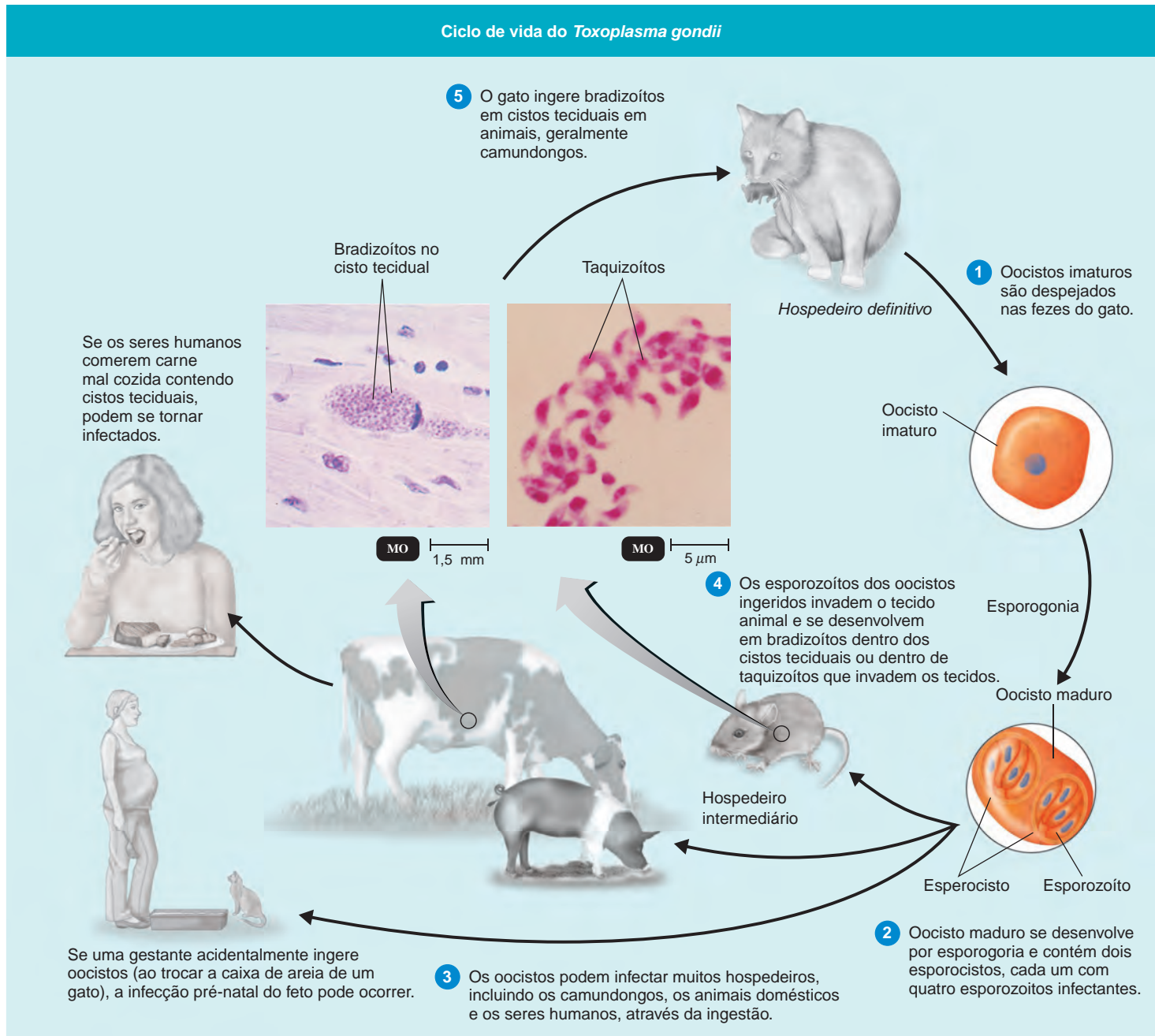



Figura 23.23 O ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*, causador da toxoplasmose. O gato doméstico é o hospedeiro definitivo, no qual os protozoários se reproduzem sexuadamente.

P Como os seres humanos contraem a toxoplasmose?

mática. Algumas pesquisas mostraram que cerca de 22 a 40% da população, sem mesmo ter conhecimento deste fato, desenvolve anticorpos contra *T. gondii* (veja a Figura 23.20). Os seres humanos geralmente contraem a infecção pela ingestão de carnes mal-cozidas contendo taquizoítos ou cistos teciduais, embora exista uma possibilidade de contrair a doença mais diretamente pelo contato com fezes de gato. O principal risco é a infecção congênita do feto, resultando em natimorto ou em uma criança com dano grave ao cérebro ou problemas de visão. Esse dano fetal ocorre somente quando a infecção inicial é adquirida durante a gravidez. Cerca de 4.000 casos são estimados nos Estados Unidos a cada ano. O problema também afeta a vida selvagem. Ao largo da costa da Califórnia, uma encefalite fatal apareceu em lontras marinhas, causada por *T. gondii* – aparentemente, elas foram infectadas por oocistos presentes nas águas residuais contaminadas pelo conteúdo liberado das caixas com fezes e urina de gatos. A perda da função imune,

sendo a Aids o melhor exemplo, permite que a infecção inaparente seja reativada a partir dos cistos teciduais. Ela geralmente causa dano neurológico grave e pode prejudicar a visão pela reativação dos cistos teciduais nos olhos.

A toxoplasmose pode ser detectada por testes sorológicos, mas a interpretação é duvidosa. Essa incerteza é muito importante, pois em alguns países europeus uma pessoa que se torna toxoplasmose-positiva durante a gravidez é encorajada a abortar o feto. Recentemente, testes por PCR tornaram-se disponíveis. Se não houver contaminação, esses testes apresentam precisão próxima a 100%, o que revolucionou o diagnóstico pré-natal. A toxoplasmose pode ser tratada com pirimetamina em combinação com sulfadiazina e ácido folínico. Entretanto, isso não afeta o estágio bradizoíto crônico e é muito tóxico.

Malária

A **malária** é caracterizada por calafrios, febre e geralmente por vômito e cefaleia intensa. Esses sintomas aparecem tipicamente em intervalos de 2 a 3 dias, alternando-se com períodos assintomáticos. A malária ocorre onde quer que o mosquito vetor *Anopheles* seja encontrado e haja hospedeiros humanos para o parasita protozoário *Plasmodium*.

Antigamente, a doença foi difundida nos Estados Unidos (**Figura 23.24**), mas o controle eficaz do mosquito e a redução no número de portadores humanos fizeram com que os casos registrados diminuíssem para menos de 100 até 1960. Nos últimos anos, entretanto, houve uma tendência a um aumento no número de casos nos Estados Unidos, refletindo o ressurgimento mundial da malária, o aumento das viagens a áreas com a doença e um aumento na imigração de áreas com malária. Ocasionalmente, a doença tem sido transmitida por seringas não esterilizadas usadas por usuários de drogas. Transfusões de sangue de pessoas que estiveram em áreas endêmicas também são sum risco potencial. Na Ásia tropical, na África, na América Central e na América do Sul, a malária ainda é um problema grave. Estima-se que a doença afete entre 300 e 500 milhões de pessoas em todo o mundo e cause de 2 a 4 milhões de mortes anualmente. Na realidade, provavelmente existem mais pessoas morrendo de malária hoje do que há 30 anos. A doença está retornando para áreas onde havia sido quase erradicada, como o leste europeu e a Ásia central. A África, onde ocorre 90% da mortalidade pela malária, é o local que mais sofre. Estima-se que a doença mate uma criança africana a cada 30 segundos.

Existem quatro tipos principais de malária. O *Plasmodium vivax* é amplamente disseminado porque pode se desenvolver nos mosquitos a baixas temperaturas e é responsável pela forma mais prevalente da doença. Algumas vezes referida como malária “benigna”, o ciclo de paroxismos ocorre a cada dois dias, e os pacientes geralmente sobrevivem mesmo sem tratamento. *P. ovale* e *P. malariae* também causam uma malária relativamente benigna, mas mesmo assim, as vítimas perdem energia. A incidência desses dois últimos tipos de malária é menor e mais restrita geograficamente.

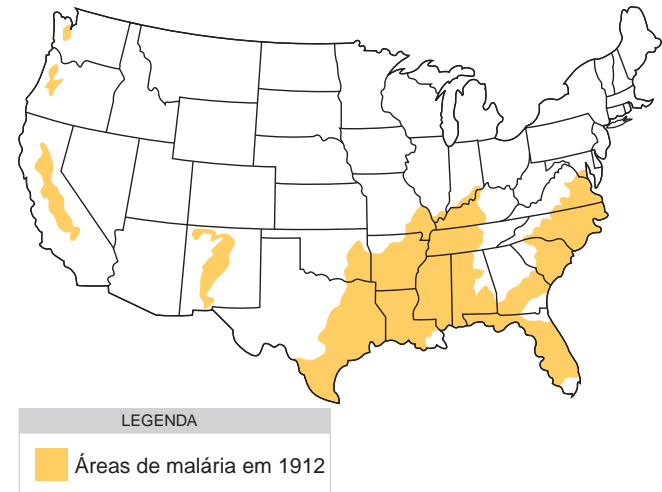
A malária mais perigosa é a causada pelo *P. falciparum*. Talvez uma razão para a virulência desse tipo de malária seja que os seres humanos e o parasita tiveram pouco tempo para se adaptarem um ao outro. Acredita-se que os seres humanos tenham sido expostos a esse parasita (pelo contato com pássaros) apenas recentemente.

Regiões onde a malária era endêmica em 1912.

Figura 23.24 A malária nos Estados Unidos.

P Que fatores poderiam contribuir para o aumento dos casos de malária desde 1990?

Referida como malária “maligna”, se não for tratada, ela mata cerca de metade dos infectados. As taxas de mortalidade mais altas ocorrem em crianças. Mais hemácias são infectadas e destruídas do que em outras formas de malária. A anemia resultante enfraquece muito a vítima. Além disso, as hemácias desenvolvem nódulos de superfície que fazem com que elas se prendam às paredes dos capilares sanguíneos, que se tornam obstruídos. Essa obstrução impede que as hemácias infectadas alcancem o baço, onde células fagocíticas as eliminariam. Os capilares bloqueados e a perda subsequente do suprimento sanguíneo levam à morte dos tecidos. Dano aos rins e ao fígado é causado dessa maneira. O cérebro muitas vezes é afetado, e o *P. falciparum* é a causa comum da malária cerebral.

A malária e seus sintomas estão intimamente relacionados ao ciclo reprodutivo complexo (veja a Figura 12.18, página 349). A infecção é iniciada pela picada de um mosquito, que carrega o *esporozoíto* do protozoário *Plasmodium* em sua saliva. O esporozoíto entra na corrente sanguínea do ser humano picado e em cerca de 30 minutos entra nas células do fígado. Os esporozoítos nas células do fígado sofrem *esquizogonia* através de uma série de passos, que finalmente resultam na liberação de cerca de 30.000 *merozoítos* na corrente sanguínea.

Os merozoítos infectam as hemácias e dentro delas eles sofrem esquizogonia novamente, após cerca de 48 horas as hemácias se rompem e cada uma libera 20 novos merozoítos (**Figura 23.25a**). O diagnóstico laboratorial da malária muitas vezes é feito pelo exame de um esfregaço sanguíneo (**Figura 23.25b**) para hemácias infectadas. Com a liberação dos merozoítos, há também uma liberação simultânea de compostos tóxicos, que é a causa dos paroxismos (intensificações recorrentes dos sintomas) de calafrios e febre, que são característicos da malária. A febre atinge 40°C, e um estágio de sudorese inicia à medida que a febre baixa. Entre os paroxismos, o paciente se sente normal.

(a) Merozoítos sendo liberados das hemácias que sofreram lise. MEV 1,5 μm

(b) Esfregaço sanguíneo de malária; observe as formas em anel. MO 2,5 μm

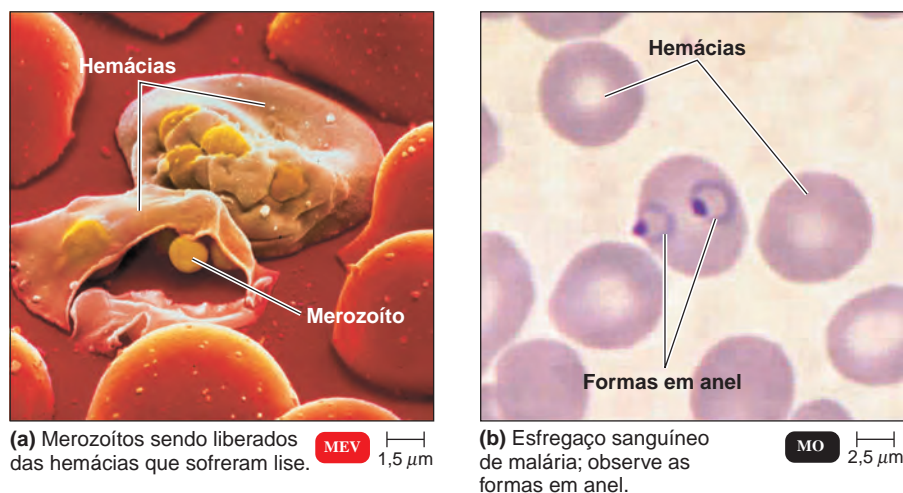



Figura 23.25 Malária. **(a)** Algumas das hemácias estão sofrendo lise e liberando merozoítos que infectarão novas hemácias. **(b)** Esfregaços sanguíneos são usados para o diagnóstico da malária. Nos estágios iniciais, o protozoário que está se alimentando se assemelha a um anel dentro da hemácia. A área central clara dentro do anel circular é o vacúolo alimentar do protozoário, e a mancha preta no anel é o núcleo.

P Observe o ciclo de vida do parasita da malária; na Figura 12.19, qual dos estágios, (a) ou (b), ocorre primeiro?

Muitos dos merozoítos liberados infectam outras hemácias dentro de poucos segundos para renovar o ciclo na corrente sanguínea. Se apenas 1% das hemácias contiver os parasitas, estima-se que existam cerca de 100 bilhões de parasitas na circulação de uma só vez em um paciente típico com malária! Alguns dos merozoítos se desenvolvem em *gametócitos* machos ou fêmeas. Quando eles entram no trato digestório de um mosquito que esteja se alimentando, passam por um ciclo sexual que produz novos esporozoítos infectantes. Foram necessários os trabalhos combinados de várias gerações de cientistas para desvendar este ciclo de vida complexo do parasita da malária.

As pessoas que sobrevivem à doença adquirem uma imunidade limitada. Embora possam ser reinfectadas, tendem a apresentar uma forma menos grave da doença. Essa imunidade relativa quase desaparece se a pessoa deixa uma área endêmica com suas reinfecções periódicas. A malária é muito perigosa durante a gravidez porque a imunidade adaptativa é suprimida.

Muitos esforços estão sendo despendidos na busca por uma vacina eficaz. O estágio de esporozoíto é de grande interesse como um alvo para uma vacina, pois neutralizando-o impede-se que a infecção inicial se torne estabelecida. Uma vacina verdadeiramente global para a malária teria que controlar não somente o *P. falciparum,* mas também a disseminação, embora mais leve, do *P. vivax*. Há problemas especiais no desenvolvimento de uma vacina para a malária. Por exemplo, diferentemente da maioria dos patógenos bacterianos ou virais, que são relativamente simples em termos genéticos e permanecem quase que os mesmos durante o curso da infecção, o parasita da malária tem quatro estágios distintos. Nesses estágios, ele chega a ter 7.000 genes que podem sofrer mutação. O resultado é que o parasita é muito eficaz em escapar da resposta imune humana. O objetivo atual é ter uma vacina até 2015 que seja pelo menos 50% eficaz e dure mais de um ano e, então, até 2025, ter uma vacina que seja 80% eficaz e dure mais de quatro anos.

O teste diagnóstico mais comum para a malária é o esfregaço sanguíneo, que requer um microscópio. Ele também é demorado e requer habilidade em sua interpretação. Além disso, é o "padrão ouro" para diagnóstico quando um grupo de profissionais bem-treinados está disponível. Testes diagnósticos rápidos de detecção de antígeno que podem ser conduzidos por pessoal com treinamento mínimo foram desenvolvidos, mas são relativamente caros. Testes diagnósticos rápidos de alta qualidade que sejam acessíveis e possam ser realizados confiavelmente sob condições de campo são urgentemente necessários. Em áreas endêmicas, a malária é comumente diagnosticada pela simples observação dos sintomas, principalmente febre, mas isso com frequência leva a um diagnóstico confuso. Descobriu-se que apenas cerca da metade dos pacientes a que foram prescritas drogas antimalária de fato tinha a doença.

Há duas considerações para as drogas antimalária: para a profilaxia (prevenção) e para o tratamento.

Profilaxia

Para viagem a algumas áreas onde a malária ainda é sensível, a cloroquina é a droga de escolha. Em áreas resistentes à cloroquina, a droga malarona, uma combinação de atovaquona e proguanil, é a mais bem tolerada. A viajantes para áreas de malária geralmente é prescrita mefloquina (Lariam). Ela requer apenas uma dose por semana, porém os usuários devem ser alertados sobre os possíveis efeitos colaterais, que incluem alucinações.

Tratamento

Há uma lista enorme de drogas antimalária disponíveis; as recomendações e os requerimentos variam de acordo com o custo, a probabilidade de desenvolvimento, a resistência e outros fatores. Nos Estados Unidos (onde há cerca de 1.200 casos importados de malária a cada ano), se a espécie não puder ser identificada, deve-se assumir que o paciente esteja infectado com *P. falciparum*. Se o paciente é de uma área ainda sensível à cloroquina, esta é a droga de escolha; para pacientes de zonas resistentes à cloroquina, existem várias opções. As duas preferidas atualmente são a malarona e a quinina oral mais um antibiótico, como a tetraciclina. Mundialmente, os componentes essenciais no tratamento da malária são os derivados de artemisinina, como artesunato e artemether. Essas drogas são derivadas de uma planta, absinto ou Artemísia, que foi por muito tempo usada como remédio para tratar febres na

China. Idealmente, elas são tomadas em combinação com outros antimaláricos para minimizar o desenvolvimento de resistência.

Como outras doenças tropicais, a disponibilidade de medicamentos é limitada pela renda muito baixa das pessoas afetadas, o que torna o seu desenvolvimento pouco lucrativo. A aplicação mais rentável de antimaláricos provavelmente continuará a ser a profilaxia dos viajantes para as áreas com malária.

O controle efetivo da malária ainda não foi obtido. Ele provavelmente irá exigir uma combinação de controle do vetor e abordagens quimioterápicas e imunológicas. Atualmente, o método de controle mais promissor é o uso de mosquiteiros tratados com inseticida, porque o mosquito *Anopheles* se alimenta à noite. Nas áreas com malária, um quarto de dormir geralmente irá conter centenas de mosquitos, 1 a 5% dos quais são infecciosos. O custo desses esforços e a necessidade de uma organização política mais eficaz em áreas de malária provavelmente serão tão importantes no controle da doença quanto os avanços na pesquisa médica.

Leishmaniose

A **leishmaniose** é uma doença complexa e disseminada que exibe formas clínicas graves. Os patógenos protozoários são cerca de 20 espécies diferentes, geralmente categorizadas em três grupos para simplificar. Um grupo, a *Leishmania donovani*, causa uma leishmaniose visceral na qual os parasitas invadem os órgãos internos. Os grupos *L. tropica* e *L. braziliensis* crescem preferencialmente em temperaturas mais frias e causam lesões na pele ou nas membranas mucosas. A leishmaniose é transmitida pela picada dos flebotomíneos fêmea, dos quais cerca de 30 espécies são encontradas em grande parte do mundo tropical e ao redor do Mediterrâneo. Esses insetos são menores que os mosquitos e geralmente penetram a malha das telas de proteção comuns. Pequenos mamíferos são reservatórios não afetados dos protozoários. A forma infectiva, a *promastigota*, é encontrada na saliva do inseto. Ela perde seu flagelo quando penetra na pele da vítima mamífera, tornando-se uma *amastigota* que se prolifera nas células fagocíticas, principalmente em locais fixos no tecido. Essas amastigotas são então ingeridas pela alimentação de flebotomíneos, renovando o ciclo. O contato com sangue contaminado de transfusões ou agulhas compartilhadas também pode resultar em infecção.

Vários casos de leishmaniose, principalmente cutâneos, ocorreram entre as tropas de combate nas regiões do Golfo Pérsico. A doença foi, em algum momento, endêmica em países do sul da Europa, como Espanha, Itália, Portugal e Península Balcânica. Casos ocasionais de leishmaniose como uma doença oportunista em pessoas infectadas pelo HIV estão começando a reaparecer nessas áreas.

Infecção por *Leishmania Donovani* (leishmaniose visceral)

A infecção por *Leishmania donovani* ocorre em grande parte do mundo tropical, embora 90% dos casos ocorram na Índia, em Bangladesh, no Sudão e no Brasil. Calcula-se que ocorra cerca de meio milhão de casos por ano. Conhecida como *kalazar* na Índia, a leishmaniose visceral geralmente é fatal. Os sintomas iniciais, após infecção de até um ano, se assemelham aos calafrios e à sudorese da malária. À medida que o protozoário se prolifera no fígado e no baço, esses órgãos aumentam muito. Finalmente, a função renal também é perdida quando esses órgãos são invadidos. Essa é uma doença debilitante que, se não tratada, resulta em morte dentro de um ou dois anos.

Figura 23.26 **Leishmaniose cutânea.** Lesão no dorso da mão de um paciente.

P **É provável que este caso progrida para leishmaniose visceral?**

Vários testes sorológicos de baixo custo e fáceis de usar foram desenvolvidos para diagnosticar a leishmaniose visceral. Eles têm substituído o exame microscópico do sangue e dos tecidos para demonstrar o parasita. Os testes de PCR são muito bons para confirmar o diagnóstico, mas geralmente requerem um laboratório central.

O principal tratamento foi por muito tempo o uso de drogas injetadas como o estibogluconato de sódio, que contém o metal tóxico antimônio. Outras drogas estão hoje substituindo as preparações baseadas em antimônio. O tratamento de primeira linha na Europa e nos Estados Unidos é a anfotericina B lipossômica, mas ela é relativamente dispendiosa para os países endêmicos. Em muitas dessas áreas, formulações convencionais da anfotericina B estão em uso. A primeira droga oral eficaz é a miltefosina, com uma taxa de cura de até 82%, mas ela é teratogênica, desenvolve resistência rapidamente e é tóxica para um número significativo de recipientes. Um antibiótico aminoglicosídeo injetável de baixo custo, a paromomicina, apresentou boa eficácia, mas sua disponibilidade é limitada.

Infecção por *Leishmania tropica* (leishmaniose cutânea)

A infecção por *Leishmania tropica* e *L. major* causa uma forma *cutânea* da leishmaniose algumas vezes chamada de *chaga oriental*. Uma pápula aparece no local da picada depois de algumas semanas de incubação (Figura 23.26). A pápula ulcera e, depois de curada, deixa uma cicatriz proeminente. Essa forma da doença é a mais comum e é encontrada em grande parte da Ásia, na África e na região do Mediterrâneo. Já foi relatada no México, na América Central e na região nordeste da América do Sul.

Infecção por *Leishmania braziliensis* (leishmaniose mucocutânea)

A infecção por *Leishmania braziliensis* é conhecida como leishmaniose *mucocutânea* porque, além da pele, ela afeta também as membranas mucosas. A doença causa destruição desfigurante dos tecidos do nariz, da boca e parte superior da garganta. Essa forma de leishmaniose é mais comumente encontrada na Península de Yucatán no México e nas áreas de floresta tropical da América do Sul e da América Central. Ela geralmente afeta trabalhadores que fazem a colheita da goma usada para fabricar chiclete. Essa doença geralmente é referida como *leishmaniose americana*.

O diagnóstico das leishmanioses cutânea e mucocutânea nas áreas onde elas são endêmicas geralmente depende da aparência clínica e do exame microscópico dos raspados das lesões.

Casos leves das doenças cutânea e mucocutânea com frequência irão finalmente se curar, mas os compostos antimoniais em geral são eficazes quando requeridos.

Babesiose

Há um número elevado de registros de **babesiose**, uma doença transmitida por carrapatos que já se acreditou ser restrita aos animais. Os roedores são o reservatório na natureza; os carrapatos vetores são mais comumente de espécies do gênero *Ixodes*. O campo da entomologia médica surgiu em grande parte das investigações no século XIX pelo microbiologista americano Theobald Smith sobre babesiose, ou febre do carrapato, no gado do Texas. A doença humana nos Estados Unidos é causada por um protozoário, geralmente da espécie *Babesia microti*. A doença se assemelha à malária em alguns aspectos e já foi confundida com ela. Os parasitas se replicam nas hemácias e causam uma doença prolongada com febre, calafrios e sudorese noturna. Ela pode ser muito mais grave, algumas vezes fatal, em pacientes imunocomprometidos. Por exemplo, os primeiros casos humanos foram observados em pessoas que se submeteram à esplenectomia (remoção do baço). O tratamento simultâneo com as drogas atovaquona e azitromicina tem sido eficaz.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Que doença transportada por carrapatos nos Estados Unidos algumas vezes é confundida com a malária quando os esfregaços sanguíneos são avaliados? **23-16**
- ✓ A eliminação de qual dessas doenças, malária ou doença de Chagas, causaria um efeito maior no bem-estar da população africana? **23-17**

Doenças helmínticas dos sistemas cardiovascular e linfático

OBJETIVO DO APRENDIZADO

23-18 Esquematizar o ciclo de vida do *Schistosoma* e mostrar onde o ciclo pode ser interrompido para impedir a doença humana.

Muitos helmintos usam o sistema cardiovascular como parte de seu ciclo de vida. Os esquistossomos se alojam nele, liberando ovos que são distribuídos na corrente sanguínea. Veja Doenças em Foco 23.5.

Esquistossomose

A **esquistossomose** é uma doença debilitante causada por um pequeno verme. Os sintomas da doença resultam dos ovos que os esquistossomos adultos colocam no hospedeiro humano. Esses helmintos adultos têm 15 a 20 mm de comprimento, e a fêmea delgada vive permanentemente em um sulco no corpo do macho, de onde se deriva o nome *esquistossomo*, ou corpo dividido (**Figura 23.27a**). A união entre o macho e a fêmea produz um suprimento contínuo de novos ovos. Alguns desses ovos se alojam nos tecidos. As reações defensivas do hospedeiro humano a esses corpúsculos estranhos causam dano tecidual local chamado de **granuloma** (**Figura 23.28**). Outros ovos são excretados e entram na água para continuar o ciclo.

O ciclo de vida do *Schistosoma* é mostrado na **Figura 23.27b.** A doença é propagada pelos seres humanos pelas fezes ou pela urina portando os ovos do esquistossomo, que penetram nos abastecimentos de água, com os quais os humanos entram em contato. Nos países desenvolvidos, o tratamento da água e do esgoto minimiza a contaminação do suprimento de água. Além disso, caramujos de certas espécies são essenciais em um estágio do ciclo de vida dos esquistossomos. Eles produzem a cercária, que penetra a pele de um ser humano que entre na água contaminada. Em muitas regiões dos Estados Unidos, não é possível encontrar um caramujo hospedeiro adequado. Portanto, embora estime-se que os ovos do esquistossomo estejam sendo liberados por muitos imigrantes, a doença não está sendo propagada.

Existem três tipos principais de esquistossomose. A doença causada pelo *Schistosoma haematobium*, algumas vezes chamada de esquistossomose urinária, resulta na inflamação da parede da bexiga urinária. De forma semelhante, *S. japonicum* e *S. mansoni* causam inflamação intestinal. Dependendo da espécie, a esquistossomose pode causar dano a vários órgãos diferentes quando os ovos migram pela corrente sanguínea para diferentes locais – por exemplo, dano ao fígado ou aos pulmões, câncer da bexiga urinária, ou, quando os ovos se alojam no cérebro, sintomas neurológicos. Geograficamente, *S. japonicum* é encontrado na Ásia. *S. haematobium* infecta muitas pessoas por toda a África e no Oriente Médio, principalmente no Egito. *S. mansoni* tem uma distribuição similar, mas também é endêmico na América do Sul e no Caribe, inclusive em Porto Rico. Calcula-se que mais de 250 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas.

Os vermes adultos não parecem ser afetados pelo sistema imunológico do hospedeiro. Aparentemente, eles rapidamente se recobrem com uma camada que mimetiza os tecidos do hospedeiro.

O diagnóstico laboratorial consiste em identificação microscópica dos vermes ou de seus ovos nas amostras de fezes ou urina, testes intradérmicos e sorológicos, como a fixação do complemento, e testes de precipitina.

O praziquantel (principalmente) e axaminiquina (apenas contra *S. mansoni*) estão aprovados para uso contra a esquistossomo-

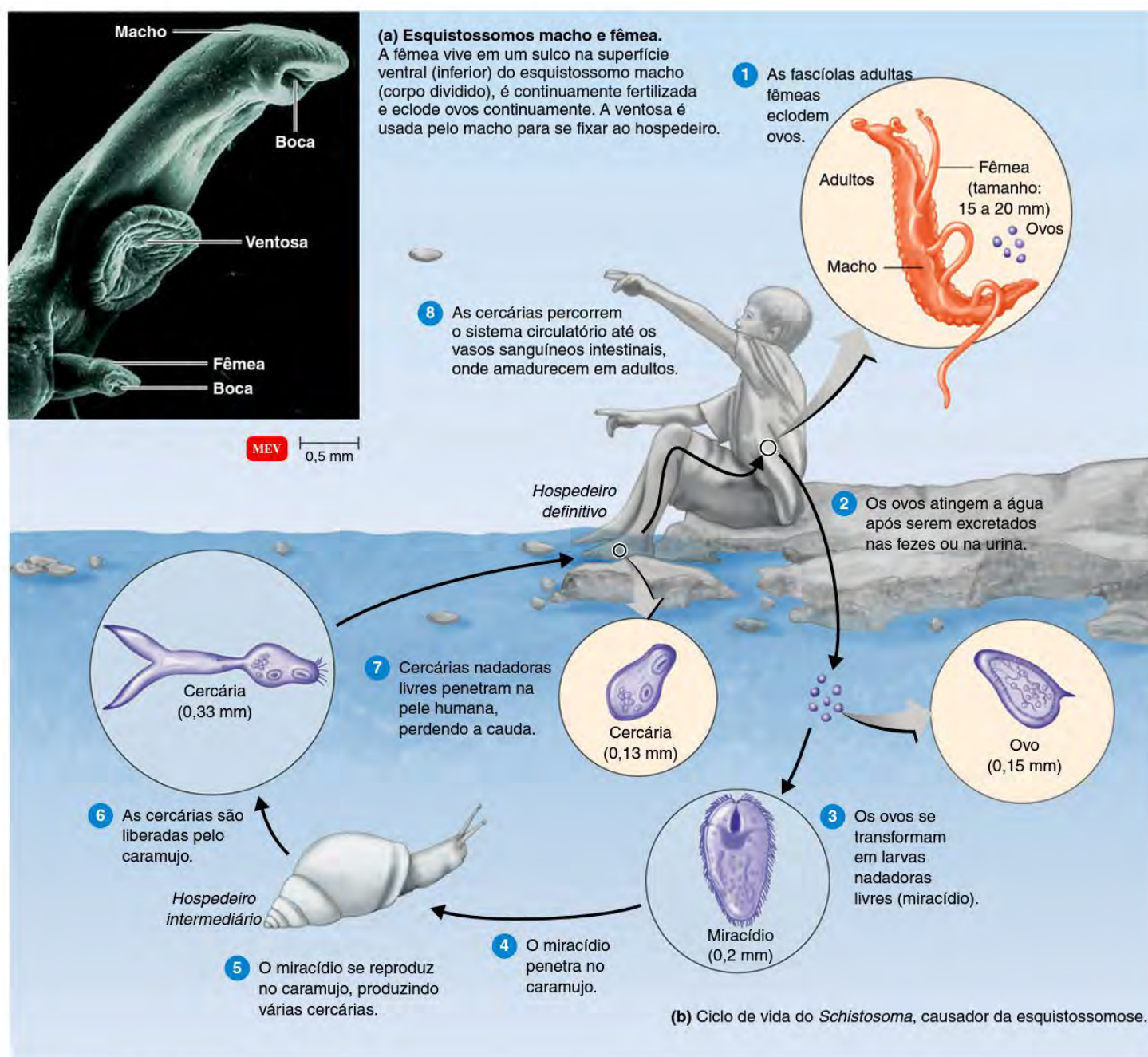



Figura 23.27 Esquistossomose.

P Qual é o papel do saneamento e dos caramujos na manutenção da esquistossome em uma população?

se nos Estados Unidos. O saneamento e a eliminação do caramujo hospedeiro também são formas úteis de controle.

TESTE SEU CONHECIMENTO

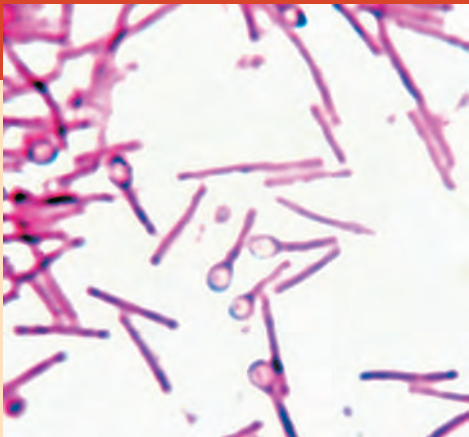
✓ Que criatura de água doce é essencial para o ciclo de vida do patógeno que causa a esquistossomose? 23-18

Dermatite do nadador

Os nadadores em lagos no norte dos Estados Unidos algumas vezes são afligidos pela **dermatite do nadador**. Essa é uma reação alérgica cutânea às cercárias, similar à esquistossomose. Entretanto, esses parasitas amadurecem apenas em aves silvestres e não em seres humanos, de modo que a infecção não progride além da penetração da pele e da resposta inflamatória local.

DOENÇAS EM FOCO 23.5

Infecções transmitidas pelo solo e pela água

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. Poucas infecções sistêmicas são adquiridas pelo contato com o solo e a água. Os patógenos geralmente entram por uma ruptura na pele. Por exemplo, um homem de 65 anos com má circulação nas pernas desenvolveu uma infecção após machucar um dos dedos do pé. O tecido morto favoreceu ainda mais a circulação reduzida, exigindo amputação de dois dedos do pé. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Coloração de gram das bactérias do dedo do pé do paciente.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Modo de transmissão	Tratamento
DOENÇA BACTERIANA					
Gangrena	*Clostridium perfringens*	Tecido morto no local da infecção	Solo	Ferimento por perfuração	Remoção cirúrgica do tecido necrosado
HELMINTÍASES					
Esquistossomose	*Schistosoma* spp.	Inflamação e dano tecidual no local dos granulomas (p. ex., fígado, pulmões, bexiga)	Hospedeiro definitivo; seres humanos	Cercárias penetram a pele	Praziquantel; oxaminiquina Prevenção: saneamento; eliminação do caramujo hospedeiro
Prurido do nadador	Larvas de esquistossomos de animais não humanos	Inflamação local	Aves silvestres	Cercárias penetram a pele	Nenhum

Figura 23.28 Um granuloma de um paciente com esquistossomos. Alguns dos ovos liberados pelos esquistossomos adultos se alojam no tecido, e o corpo responde ao irritante circundando com tecido cicatricial, formando um granuloma.

P Por que o sistema imune é ineficaz contra os esquistossomos adultos?

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 637)

1. O coração, o sangue e os vasos sanguíneos constituem o sistema cardiovascular.
2. A linfa, os vasos linfáticos, os linfonodos e os órgãos linfoides constituem o sistema linfático.

Estrutura e função dos sistemas cardiovascular e linfático (p. 638)

1. O coração circula substâncias para as células dos tecidos e a partir delas.
2. O sangue é uma mistura de plasma e células.
3. O plasma transporta substâncias dissolvidas. As hemácias transportam oxigênio. As células brancas do sangue estão envolvidas na defesa do corpo contra a infecção.
4. O fluido filtrado dos capilares para os espaços entre as células do tecido é chamado de fluido intersticial.
5. O fluido intersticial entra nos capilares linfáticos e é chamado de linfa; os vasos denominados linfáticos devolvem a linfa ao sangue.
6. Os linfonodos contêm macrófagos fixos, células B e células T.

Doenças bacterianas dos sistemas cardiovascular e linfático (p. 638-655)

Sepse e choque séptico (p. 639-641)

1. A sepse é uma resposta inflamatória causada pela propagação das bactérias e de suas toxinas a partir de um foco de infecção. A septicemia é a sepse que envolve a proliferação dos patógenos no sangue.
2. A sepse gram-negativa pode levar ao choque séptico, caracterizado por baixa pressão sanguínea. A endotoxina causa os sintomas.

3. Enterococos resistentes a antibiótico e estreptococos do grupo B causam a sepse gram-positiva.
4. A sepse puerperal inicia como uma infecção do útero após nascimento ou aborto; ela pode progredir para peritonite ou septicemia.
5. *Streptococcus pyogenes* é a causa mais frequente de sepse puerperal.
6. Oliver Wendell Holmes e Ignaz Semmelweiss demonstraram que a sepse puerperal era transmitida pelas mãos e pelos instrumentos cirúrgicos das parteiras e dos médicos.

Infecções bacterianas do coração (p. 641)

7. A camada interna do coração é o endocárdio.
8. A endocardite bacteriana subaguda geralmente é causada por estreptococos α-hemolíticos, estafilococos e enterococos.
9. A infecção se origina de um foco de infecção, como uma extração dentária.
10. Anormalidades preexistentes do coração são fatores de predisposição.
11. Os sinais incluem febre, anemia e sopro cardíaco.
12. A endocardite bacteriana aguda geralmente é causada por *Staphylococcus aureus*.
13. As bactérias causam a destruição rápida das valvas cardíacas.

Febre reumática (p. 641, 642)

14. A febre reumática é uma complicação autoimune de infecções estreptocócicas.
15. A febre reumática é manifestada como artrite ou inflamação do coração. Ela pode resultar em dano permanente do coração.
16. Anticorpos contra estreptococos β-hemolíticos do grupo A reagem com os antígenos estreptocócicos depositados nas articulações ou valvas cardíacas, ou reagem de maneira cruzada com o músculo cardíaco.
17. A febre reumática pode acompanhar uma infecção estreptocócica, como uma infecção de garganta por estreptococo. Os estreptococos podem não estar presentes no momento da febre reumática.
18. O tratamento imediato das infecções estreptocócicas pode reduzir a incidência de febre reumática.
19. A penicilina é administrada como medida preventiva contra as infecções estreptocócicas subsequentes.

Tularemia (p. 642, 643)

20. A tularemia é causada pela *Francisella tularensis*. Os reservatórios são mamíferos silvestres pequenos, principalmente coelhos.
21. Os sinais incluem ulceração no local de entrada, seguida por septicemia e pneumonia.

Brucelose (febre ondulante) (p. 643-645)

22. A brucelose pode ser causada por *Brucella abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*.
23. As bactérias entram através de rupturas minúsculas na mucosa ou na pele, se reproduzem em macrófagos e se propagam via vasos linfáticos até o fígado, o baço ou a medula óssea.
24. Os sinais incluem mal-estar e febre que aparece toda noite (febre ondulante).
25. O diagnóstico tem como base testes sorológicos.

Antraz (p. 645, 646)

26. *Bacillus anthracis* causa o antraz. No solo, os endosporos podem sobreviver por até 60 anos.

27. Os animais de pastejo adquirem a infecção depois de ingerirem os endosporos.
28. Os seres humanos contraem o antraz pela manipulação do couro de animais infectados. Os endosporos entram por cortes na pele, pelo trato respiratório ou pela boca.
29. A entrada através da pele causa uma pústula que pode progredir para sepse. A entrada através do trato respiratório pode resultar em choque séptico.
30. O diagnóstico tem como base o isolamento e a identificação das bactérias.

Gangrena (p. 646)

31. A morte dos tecidos moles por isquemia (perda de suprimento sanguíneo) é chamada de gangrena.
32. Os micro-organismos crescem em nutrientes liberados pelas células gangrenadas.
33. A gangrena é especialmente suscetível ao crescimento de bactérias anaeróbicas como *Clostridium perfringens*, o agente causador da gangrena gasosa.
34. *C. perfringens* pode invadir a parede do útero durante abortos realizados inadequadamente.
35. A remoção cirúrgica do tecido necrosado, as câmaras hiperbáricas e a amputação são usados para tratar a gangrena gasosa.

Doenças sistêmicas causadas por mordidas e arranhões (p. 646-648)

36. *Pasteurella multocida*, introduzida pela mordida de um cão ou gato, pode causar septicemia.
37. As bactérias anaeróbicas infectam as mordidas profundas causadas por animais.
38. A doença da arranhadura do gato é causada por *Bartonella henselae*.
39. A febre da mordida do rato é causada por *Streptobacillus moniliformis* e *Spirillum minus*.

Doenças transmitidas por vetores (p. 648-655)

Peste (p. 648-650)

40. A peste é causada pela *Yersinia pestis*. O vetor geralmente é a pulga do rato (*Xenopsylla cheopis*).
41. Os reservatórios da peste bubônica incluem ratos da Europa e roedores da América do Norte.
42. Os sinais da peste bubônica incluem hematomas na pele e linfonodos aumentados (bubões).
43. As bactérias podem penetrar nos pulmões e causar peste pneumônica.
44. O diagnóstico laboratorial tem como base o isolamento e a identificação das bactérias.
45. Os antibióticos são eficazes para tratar a peste, mas devem ser administrados rapidamente após a exposição à doença.

Febre recorrente (p. 652)

46. A febre recorrente é causada por espécies do gênero *Borrelia* e transmitida por carrapatos argasídeos.
47. O reservatório da doença são os roedores.
48. Os sinais incluem febre, icterícia e manchas cor-de-rosa. Eles reaparecem três ou quatro vezes depois de recuperação aparente.
49. O diagnóstico laboratorial tem como base a presença de espiroquetas no sangue do paciente.

Doença de Lyme (borreliose de Lyme) (p. 652-654)

50. A doença de Lyme é causada pela *Borrelia burgdorferi* e é transmitida por um carrapato (*Ixodes*).
51. Os camundongos silvestres são o reservatório animal.
52. O diagnóstico tem como base testes sorológicos e sintomas clínicos.

Erliquiose e anaplasmose (p. 654)

53. A erliquiose e a anaplasmose humana são causadas por *Ehrlichia* e *Anaplasma* e são transmitidas pelos carrapatos *Ixodes*.

Tifo (p. 654, 655)

54. O tifo é causado por riquétsias, parasitas intracelulares obrigatórios de células eucarióticas.

Tifo epidêmico (p. 654, 655)

55. O piolho do corpo humano, *Pediculus humanus corporis*, transmite a *Rickettsia prowazekii* em suas fezes, que são depositadas enquanto o piolho está se alimentando.
56. O tifo epidêmico é prevalente em condições de aglomeração e sem saneamento, que permitem a proliferação dos piolhos.
57. Os sinais do tifo são exantema, febre alta prolongada e estupor.
58. Tetraciclina e cloranfenicol são antibióticos usados no tratamento.

Tifo endêmico murino (p. 655)

59. O tifo endêmico murino é uma doença menos grave causada pela *Rickettsia typhi* e transmitida de roedores para seres humanos pela pulga do rato.

Febres maculosas (p. 655)

60. *Rickettsia rickettsii* é um parasita de carrapatos (*Dermacentor* spp.) no sudeste dos Estados Unidos, nos Apalaches e nas Montanhas Rochosas.
61. As riquétsias podem ser transmitidas aos seres humanos, causando a febre maculosa das Montanhas Rochosas.
62. Cloranfenicol e tetraciclina tratam efetivamente a febre maculosa das Montanhas Rochosas ou tifo transmitido por carrapatos.
63. Testes sorológicos são usados no diagnóstico laboratorial.

Doenças virais dos sistemas cardiovascular e linfático (p. 655-660)

Linfoma de Burkitt (p. 655, 656)

1. O vírus Epstein-Barr (vírus EB, HHV-4) causa o linfoma de Burkitt.
2. O linfoma de Burkitt tende a ocorrer em pacientes cujo sistema imunológico foi enfraquecido, por exemplo, por malária ou Aids.

Mononucleose infecciosa (p. 656, 657)

3. A mononucleose infecciosa é causada pelo vírus EB.
4. O vírus se multiplica nas glândulas parótidas e está presente na saliva. Ele causa a proliferação de linfócitos atípicos.
5. A doença é transmitida pela ingestão de saliva de indivíduos infectados.
6. O diagnóstico é feito pela técnica de anticorpo fluorescente indireto.
7. O vírus EB pode causar outras doenças, inclusive câncer e esclerose múltipla.

Infecções por citomegalovírus (p. 658)

8. O CMV (HHV-5) causa corpúsculos de inclusão e citomegalia de células hospedeiras.
9. O CMV é transmitido pela saliva e outros fluidos corporais.
10. A doença de inclusão citomegálica pode ser assintomática e leve, ou progressiva e fatal. Os pacientes imunossuprimidos podem desenvolver pneumonia.
11. Se o vírus cruza a placenta, ele pode causar infecção congênita do feto, resultando em desenvolvimento mental prejudicado, dano neurológico e natimorte.

Febre de chikungunya (p. 658)

12. O vírus chikungunya, que causa febre e dor articular severa, é transmitido pelos mosquitos *Aedes*.

Febres hemorrágicas virais clássicas (p. 658, 659)

13. A febre amarela é causada pelo vírus da febre amarela. O vetor é o mosquito *Aedes aegypti*.
14. Sinais e sintomas incluem febre, calafrios, cefaleia, náusea e icterícia.
15. O diagnóstico tem como base a presença de anticorpos neutralizantes do vírus no hospedeiro.
16. Não há tratamento disponível, mas existe uma vacina viral viva atenuada.
17. A dengue é causada pelo vírus da dengue e é transmitida pelo mosquito *Aedes*.
18. Os sinais são febre, dor muscular e articular e erupções.
19. O extermínio dos mosquitos é necessário para controlar a doença.

20. A febre dengue hemorrágica (DHF) pode causar choque.

Febres hemorrágicas virais emergentes (p. 659, 660)

21. As doenças humanas causadas pelos vírus Marburg, Ebola e Lassa foram notificadas pela primeira vez no final da década de 960.
22. O vírus Ebola é encontrado nos morcegos-das-frutas. Os vírus Lassa são encontrados em roedores.
23. Os roedores são os reservatórios para as febres hemorrágicas Argentina e Boliviana.
24. A síndrome pulmonar do *Hantavirus* e a febre hemorrágica com síndrome renal são causadas pelo *Hantavirus*. O vírus é contraído pela inalação de fezes e urina secas de roedores.

Doenças protozoóticas dos sistemas cardiovascular e linfático (p. 660-666)

Doença de Chagas (tripanossomíase americana) (p. 661)

1. O *Trypanosoma cruzi* causa a doença de Chagas. O reservatório inclui muitos animais selvagens. O vetor é um reduvídeo, o “barbeiro”.

Toxoplasmose (p. 661-663)

2. A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*.
3. *T. gondii* sofre reprodução sexuada no trato intestinal de gatos domésticos, e oocistos são eliminados nas fezes do gato.
4. Na célula hospedeira, os esporozoítos se reproduzem para formar taquizoítos ou bradizoítos que invadem os tecidos.
5. Os seres humanos contraem a infecção ingerindo taquizoítos ou cistos teciduais em carne mal-cozida de um animal infectado ou pelo contato com fezes de gato.
6. Infecções congênitas podem ocorrer. Sinais e sintomas incluem lesão cerebral grave ou problemas de visão.

Malária (p. 663-665)

7. Os sinais e os sintomas da malária são calafrios, febre, vômito e cefaleia, que ocorrem em intervalos de 2 a 3 dias.
8. A malária é transmitida pelos mosquitos *Anopheles*. O agente causador é qualquer uma das quatro espécies de *Plasmodium*.
9. Os esporozoítos se reproduzem no fígado e liberam os merozoítos na corrente sanguínea, onde eles infectam as hemácias e produzem mais merozoítos.
10. Novas drogas estão sendo desenvolvidas à medida que os protozoários desenvolvem resistência a drogas como a cloroquina.

Leishmaniose (p. 665, 666)

11. *Leishmania* spp., que são transmitidas por flebotomíneos, causam a leishmaniose.
12. Os protozoários se reproduzem no fígado, no baço e nos rins.
13. Compostos antimoniais são usados no tratamento.

Babesiose (p. 666)

14. A babesiose é causada pelo protozoário *Babesia microti* e é transmitida aos seres humanos por carrapatos.

Doenças helmínticas dos sistemas cardiovascular e linfático (p. 666-668)

Esquistossomose (p. 666, 667)

1. Espécies da filária do sangue *Schistosoma* causam a esquistossomose.
2. Os ovos eliminados nas fezes eclodem em larvas que infectam o hospedeiro intermediário, um caramujo. As cercárias livres são liberadas pelo caramujo e penetram a pele do ser humano.
3. As filárias adultas vivem nas veias do fígado ou da bexiga urinária em seres humanos.
4. Os granulomas são a resposta de defesa do hospedeiro contra os ovos que permanecem no corpo.
5. A observação dos ovos ou das filárias nas fezes, exames de pele ou testes sorológicos indiretos podem ser usados para o diagnóstico.
6. Quimioterapia é usada para tratar a doença; o saneamento e a erradicação do caramujo são usados para preveni-la.

Dermatite do nadador (p.667)

7. A dermatite do nadador é uma reação alérgica cutânea às cercárias que penetram a pele. Os hospedeiros definitivos dessa filaria são aves silvestres.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Mostre a via do *Streptococcus* a partir de uma infecção no pericárdio. Identifique as portas de entrada para o *Trypanosoma cruzi*, o *Hantavirus* e o citomegalovírus.

2. Complete a tabela a seguir:

Doença	Agente causador frequente	Condição predisponente
Sepse puerperal		
Endocardite bacteriana subaguda		
Endocardite bacteriana aguda		
Febre reumática		

3. Compare e contraste tifo epidêmico, tifo endêmico murino e tifo transmitido por carrapato.
4. Complete a tabela a seguir:

Doença	Agente causador	Vetor	Tratamento
Malária			
Febre amarela			
Dengue			
Febre intermitente			
Leishmaniose			

5. Complete a tabela a seguir:

Doença	Agente causador	Transmissão	Reservatório
Tularemia			
Brucelose			
Antraz			
Doença de Lyme			
Erliquiose			
Doença da inclusão citomegálica			
Peste			

6. Liste o agente causador, o modo de transmissão e o reservatório da esquistossomose, da toxoplasmose e da doença de Chagas. Qual doença é mais provável de entrar nos Estados Unidos? Onde as outras doenças são endêmicas?
7. Compare e contraste a doença da arranhadura do gato e a toxoplasmose.
8. Por que é provável que o *Clostridium perfringens* cresça em ferimentos gangrenados?
9. Liste o agente causador e o modo de transmissão da mononucleose infecciosa.

Múltipla escolha

Utilize as seguintes opções para responder as questões 1 a 4:

a. Erliquiose. **d.** Toxoplasmose.
b. Doença de Lyme. **e.** Febre hemorrágica viral.
c. Choque séptico.

1. Um paciente apresenta vômito, diarreia e um histórico de febre e cefaleia. Culturas bacterianas do sangue, do CSF e das fezes são negativas. Qual é o diagnóstico?
2. Um paciente foi hospitalizado por causa de febre contínua e progressão dos sintomas, incluindo cefaleia, fadiga e dores nas costas. Os testes de anticorpos para *Borrelia burgdorferi* foram negativos. Qual é o diagnóstico?
3. Uma paciente reclamou de dor de cabeça. Uma varredura por tomografia computadorizada (TC) revelou cistos de tamanhos variados em seu cérebro. Qual é o seu diagnóstico?
4. Um paciente se apresenta com confusão mental, respiração ofegante e batimentos cardíacos rápidos e pressão sanguínea baixa. Qual é o diagnóstico?
5. Um paciente apresenta uma erupção circular vermelha em seu braço, febre, indisposição e dor articular. O tratamento apropriado é:
   a. Penicilina. **d.** Rifampina.
   b. Cloroquina. **e.** Nenhum tratamento.
   c. Drogas anti-inflamatórias.
6. Qual dos seguintes não é uma doença transmitida por carrapatos?
   a. Babesiose. **d.** Febre intermitente.
   b. Erliquiose. **e.** Tularemia.
   c. Doença de Lyme.

Utilize as seguintes opções para responder as questões 7 e 8:

a. Brucelose. **d.** Febre maculosa das Montanhas Rochosas.
b. Malária. **e.** Febre hemorrágica Ebola.
c. Febre intermitente.

7. A febre do paciente surge toda noite. Cocos gram-positivos oxidase-positivos foram isolados de uma lesão em seu braço. Qual é o diagnóstico?
8. Um paciente foi hospitalizado com febre e cefaleia. Espiroquetas foram observadas em seu sangue. Qual é o diagnóstico?
9. Qual das doenças a seguir apresenta a maior incidência nos Estados Unidos?
   a. Brucelose.
   b. Febre hemorrágica Ebola.
   c. Malária.
   d. Peste.
   e. Febre maculosa das Montanhas Rochosas.
10. Dezenove funcionários de um abatedouro desenvolveram febre e calafrios, com a febre atingindo pico de 40°C toda noite. O modo de transmissão mais provável dessa doença é:
   a. Um vetor. **d.** Uma mordida de animal.
   b. Via respiratória. **e.** Água.
   c. Um ferimento por perfuração.

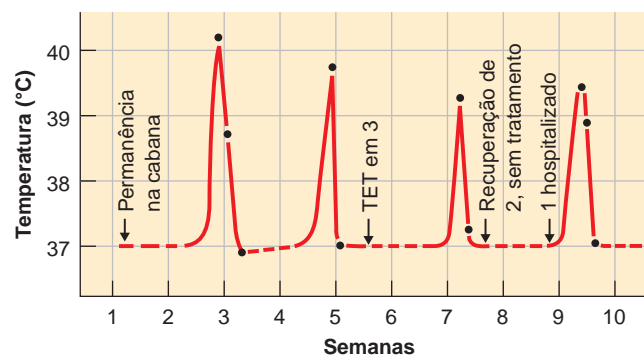
Pensamento crítico

1. Testes com anticorpo fluorescente (FA) indireto no soro de três mulheres de 25 anos, cada uma considerando ficar grávida, forneceram as informações a seguir. Qual dessas mulheres deve apresentar toxoplasmose? Que conselho poderia ser dado a cada mulher em relação à toxoplasmose?

	Título de anticorpo		
Paciente	**Dia 1**	**Dia 5**	**Dia 12**
Paciente A	1.024	1.024	1.024
Paciente B	1.024	2.048	3.072
Paciente C	0	0	0

2. Qual é a maneira mais eficaz de controlar a malária e a dengue?
3. Em adultos, a segunda infecção pelo vírus da dengue resulta em febre dengue hemorrágica (DHF, de *dengue hemorrhagic fever*), que é caracterizada por sangramento da pele e da mucosa. A DHF pode ser fatal. Em crianças com menos de um ano, a primeira infecção pelo vírus da dengue resulta em DHF. Forneça uma explicação para isso.

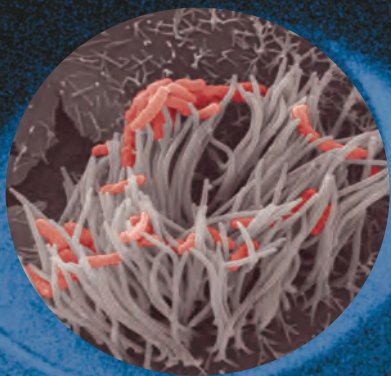
Aplicações clínicas

1. Um homem de 19 anos saiu para caçar cervos. Enquanto estava na trilha, encontrou um coelho morto parcialmente desmembrado. O caçador pegou as patas dianteiras como amuleto de boa sorte e as deu para outro caçador no grupo. O coelho fora manuseado com as mãos desprotegidas, que estavam contundidas e arranhadas do trabalho do caçador como mecânico de automóveis. Feridas inflamadas em suas mãos, pernas e joelhos foram notadas dois dias depois. Quais doenças infecciosas você suspeita que o caçador tenha? Como você procederia para comprová-las?
2. Em 30 de março, um veterinário de 35 anos teve febre, calafrios e vômito. Em 31 de março, ele foi hospitalizado com diarreia, bubão na axila esquerda e pneumonia secundária bilateral. Em 27 de março, ele havia tratado um gato com dificuldade respiratória; uma imagem de raio X revelou infiltrado pulmonar. O gato morreu em 28 de março e foi descartado. Cloranfenicol foi administrado ao veterinário. Em 10 de abril, sua temperatura retornou ao normal, e em 20 de abril, ele foi liberado do hospital. Aos 60 contatos humanos foi dada tetraciclina. Identifique os períodos de incubação e prodrômicos para esse caso. Explique por que os 60 contatos foram tratados. Qual era o agente etiológico? Como você identificaria o agente?
3. Três de cinco pacientes que se submeteram a uma cirurgia de substituição de valva cardíaca desenvolveram bacteremia. O agente causador foi *Enterobacter cloacae*. Quais foram os sinais e os sintomas dos pacientes? Como você identificaria essa bactéria? Um manômetro usado nas operações foi positivo para cultura de *E. cloacae*. Qual é a fonte mais provável dessa contaminação? Sugira uma maneira de prevenir tais ocorrências.
4. Em agosto e setembro, seis pessoas que passaram a noite na mesma cabana, cada uma em um momento diferente, desenvolveram febre, como mostrado no gráfico a seguir. Três se recuperaram após terapia com tetraciclina (TET), duas se recuperaram sem terapia, e uma foi hospitalizada com choque séptico. Qual é a doença? Qual é o período de incubação dessa doença? Como você explica as mudanças periódicas de temperatura? O que causou o choque séptico no sexto paciente?

5. Um homem de 67 anos trabalhava em uma indústria têxtil que processava pelos de cabra importados em tecidos. Ele notou uma espinha ligeiramente inchada, mas indolor, em seu queixo. Dois dias depois, ele desenvolveu uma úlcera de 1 cm no local da espinha e uma temperatura de 37,6°C. Ele foi tratado com tetraciclina. Qual é a etiologia de sua doença? Sugira modos de prevenção.

24 Doenças Microbianas do Sistema Respiratório

A cada respiração, inalamos vários micro-organismos; portanto, o trato respiratório superior é a principal porta de entrada de patógenos. Na realidade, as infecções do sistema respiratório são o tipo mais comum de infecção – e um dos mais nocivos. Alguns patógenos que entram através do trato respiratório podem infectar outras partes do corpo, causando doenças como sarampo, caxumba e rubéola.

O trato respiratório superior apresenta várias defesas anatômicas contra patógenos transmitidos pelo ar (*airborne*). As vibrissas (pelos rígidos) no nariz filtram partículas de pó do ar. O nariz é revestido com uma membrana mucosa que contém células secretoras de muco e cílios abundantes. A porção superior da garganta também contém uma membrana mucosa ciliada. O muco humidifica o ar inalado e retém partículas de pó e micro-organismos. Os cílios auxiliam a remover essas partículas ao movê-las em direção à boca para que sejam eliminadas.

Na junção do nariz com a garganta existem massas de tecido linfoide, as tonsilas, que contribuem com a imunidade a certas infecções. Uma vez que o nariz e a garganta estão conectados aos seios, ao aparato lacrimal e ao ouvido médio, as infecções geralmente se espalham de uma região para a outra.

SOB O MICROSCÓPIO

Bordetella pertussis, bactérias (laranja) crescendo sobre células ciliadas do trato respiratório superior.

P&R

Como essas bactérias, ao crescerem sobre essas células especiais do corpo, causam a coqueluche?

***Procure pela resposta neste capítulo*.**

Estrutura e função do sistema respiratório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-1 Descrever como os micro-organismos são impedidos de penetrar o sistema respiratório.

Por razões práticas, o sistema respiratório é dividido em trato respiratório superior e trato respiratório inferior. O **trato respiratório superior** consiste em nariz, faringe (garganta) e estruturas associadas, incluindo o ouvido médio e as tubas auditivas (tuba de Eustáquio) (**Figura 24.1**). Os ductos dos seios e os ductos nasolacrimais do aparato lacrimal (produtor de lágrimas) se abrem na cavidade nasal (veja a Figura 16.3, página 452). As tubas auditivas do ouvido médio se abrem na porção superior da garganta.

O **trato respiratório inferior** consiste em laringe (caixa de voz), traqueia, tubos bronquiais e alvéolos (**Figura 24.2**). Os alvéolos são pequenos sacos de ar que formam o tecido pulmonar; dentro deles, o oxigênio e o dióxido de carbono são trocados entre os pulmões e o sangue. Nossos pulmões contêm mais de 300 milhões de alvéolos, com uma área para trocas gasosas de 70 m^2 ou mais em um adulto. A membrana de camada dupla que envolve os pulmões é a *pleura*, ou membranas pleurais. Uma membrana mucosa ciliada reveste o trato respiratório inferior até os brônquios menores e os auxilia a impedir que os micro-organismos alcancem os pulmões.

Como discutido no Capítulo 16, as partículas retidas na laringe, na traqueia e nos brônquios maiores são movidas em direção à garganta por uma ação dos cílios chamada de *elevador ciliar* (veja a Figura 16.4, página 452). Se os micro-organismos alcançarem os pulmões, células fagocíticas chamadas de *macrófagos alveolares* geralmente localizam, ingerem e destroem muitos deles. Anticorpos IgA em secreções como o muco respiratório, a saliva e as lágrimas também ajudam a proteger as superfícies da mucosa do sistema respiratório de muitos patógenos. Desse modo, o corpo apresenta vários mecanismos para remover os patógenos que causam as infecções transmitidas pelo ar.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a função dos pelos nas passagens aéreas do nariz? **24-1**

Microbiota normal do sistema respiratório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-2 Caracterizar a microbiota normal dos tratos respiratórios superior e inferior.

Figura 24.1 Estruturas do trato respiratório superior.

P **Cite as defesas do trato respiratório superior contra as doenças.**

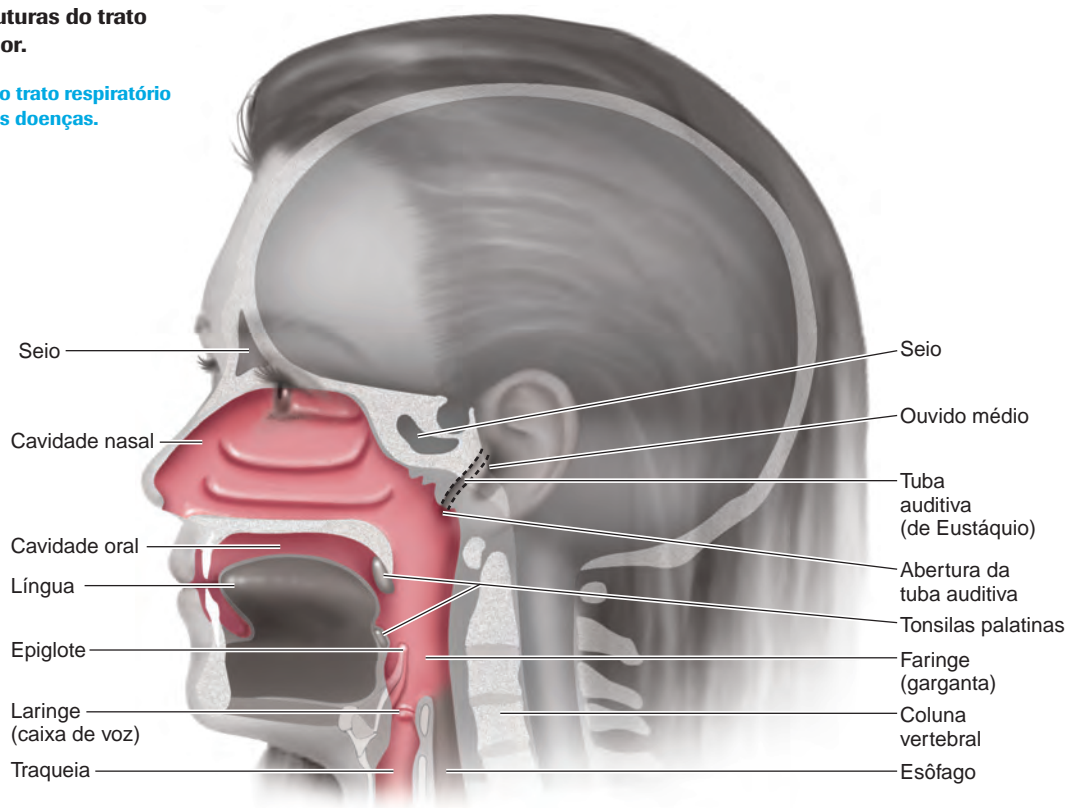
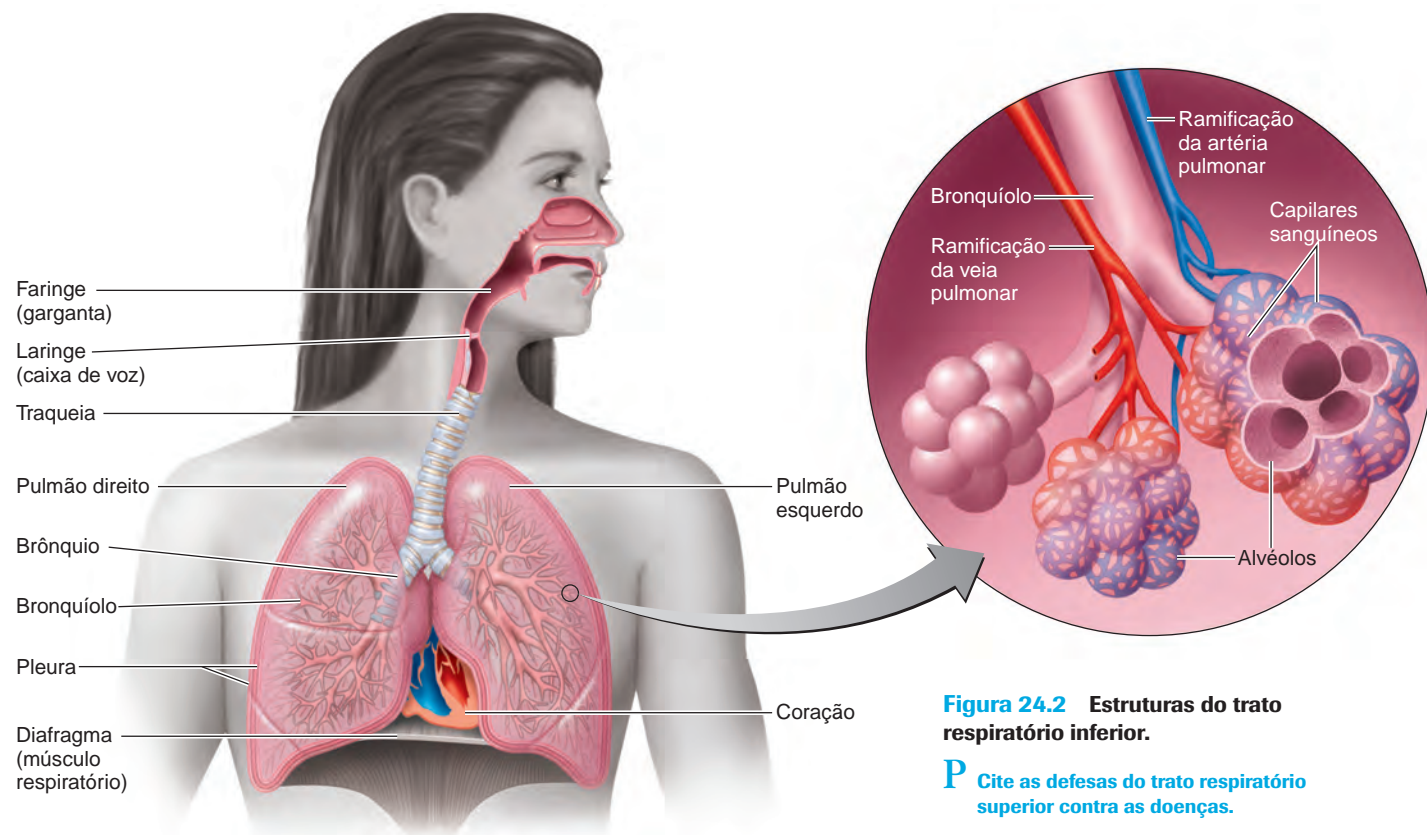



Figura 24.2 Estruturas do trato respiratório inferior.

P Cite as defesas do trato respiratório superior contra as doenças.

Vários micro-organismos potencialmente patogênicos fazem parte da microbiota normal do trato respiratório superior. Entretanto, geralmente eles não causam doença porque os micro-organismos predominantes da microbiota normal suprimem seu crescimento competindo com eles por nutrientes e produzindo substâncias inibitórias.

Em contraste, o trato respiratório inferior é quase estéril – embora a traqueia possa conter algumas bactérias – devido ao funcionamento geralmente eficaz do elevador ciliar nos brônquios.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Geralmente, o trato respiratório inferior é quase estéril. Qual é o principal mecanismo responsável? **24-2**

DOENÇAS MICROBIANAS DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-3 Diferenciar faringite, laringite, tonsilite, sinusite e epiglotite.

Como muitos de nós sabemos por experiência própria, o sistema respiratório é o local de muitas infecções comuns. Discutiremos em breve a **faringite**, uma inflamação das membranas mucosas da garganta, ou dor de garganta. Quando a laringe é o local da infecção, apresentamos **laringite**, que afeta nossa capacidade de falar. Os micróbios que causam a faringite também podem causar inflamação das tonsilas, ou **tonsilite**.

Os seios nasais são cavidades em certos ossos do crânio que se abrem na cavidade nasal. Eles apresentam um revestimento de membrana mucosa que é contínua com a da cavidade nasal. A infecção de um seio que envolve secreção nasal excessiva de muco é chamada de **sinusite**. Se a abertura pela qual o muco deixa o seio torna-se bloqueada, a pressão interna pode causar dor ou enxaqueca. Essas doenças são quase sempre *autolimitadas*, significando que a recuperação geralmente ocorrerá sem intervenção médica.

Provavelmente a doença infecciosa mais ameaçadora do trato respiratório superior seja a **epiglotite**, uma inflamação da epiglote. A epiglote é uma estrutura da cartilagem em forma de aba que impede que o material ingerido entre pela laringe (veja a Figura 24.1). A epiglotite é uma doença que se desenvolve rapidamente e que pode resultar em morte dentro de poucas horas. Ela é causada

por patógenos oportunistas, geralmente *Haemophilus influenzae* tipo b. A vacina Hib recentemente introduzida, embora dirigida diretamente contra a meningite (veja a Figura 22.3, página 613), tem reduzido de modo significativo a incidência de epiglotite na população vacinada.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual das seguintes é a mais provável de estar associada com uma cefaleia: faringite, laringite, sinusite ou epiglotite? **24-3**

Doenças bacterianas do trato respiratório superior

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-4 Listar o agente causador, os sintomas, a prevenção, o tratamento preferencial e os testes de identificação laboratorial para faringite estreptocócica, febre escarlate (escarlatina), difteria, difteria cutânea e otite média.

Patógenos transmitidos pelo ar fazem seu primeiro contato com as membranas mucosas do corpo quando penetram o trato respiratório superior. Muitas doenças respiratórias ou sistêmicas iniciam infecções neste local.

Faringite estreptocócica

A **faringite estreptocócica** é uma infecção do trato respiratório superior causada por estreptococos do grupo A (GAS, de *group A streptococci*). Esse grupo de bactérias gram-positivas consiste unicamente no *Streptococcus pyogenes*, a mesma bactéria responsável por muitas infecções da pele e tecidos moles, como impetigo, erisipela e endocardite bacteriana aguda.

A patogenicidade dos GAS é acentuada por sua resistência à fagocitose. Eles também são capazes de produzir enzimas especiais, chamadas de *estreptoquinases*, que lisam coágulos de fibrina, e *estreptolisinas*, que são citotóxicas para as células dos tecidos, hemácias e leucócitos.

Antigamente, o diagnóstico da faringite tinha como base o cultivo bacteriano a partir de raspados de garganta. Os resultados levavam 12 horas ou mais. Porém, no início da década de 1980, testes rápidos de detecção de antígeno que podiam detectar GAS diretamente nos raspados de garganta tornaram-se disponíveis. Os primeiros testes rápidos usavam os métodos de aglutinação por látex indireto (veja a Figura 18.7, página 511). Esses testes têm sido substituídos por testes de **ensaio imunoenzimático** (**EIA**, de *enzyme immunoassay*), que são mais sensíveis e mais fáceis de serem lidos. Atualmente, existe uma ampla variedade de testes rápidos disponíveis comercialmente para avaliar casos de faringite, o que reflete o fato de milhões de pacientes procurarem tratamento para a doença a cada ano. Na verdade, a maioria dos pacientes apresentando dor de garganta não tem uma infecção estreptocócica. Alguns casos são causados por outras bactérias, mas muitos são causados por vírus – para os quais a antibioticoterapia é ineficaz. Mesmo a presença dos GAS não é uma indicação conclusiva de que sejam a causa da dor de garganta. Em regiões onde ocorre a febre reumática aguda, recomenda-se o uso de cultura bacteriana e testes rápidos.

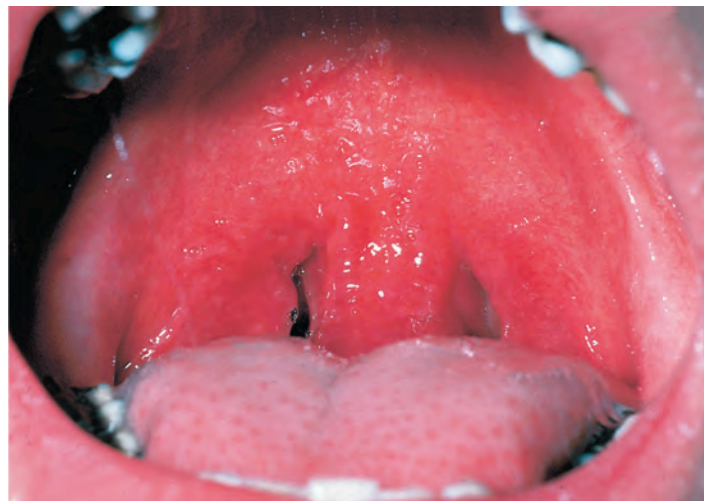



Figura 24.3 **Faringite estreptocócica.** Observe a inflamação.

P **Como a faringite estreptocócica é diagnosticada?**

Felizmente, os GAS têm permanecido sensíveis à penicilina, embora alguma resistência à eritromicina tenha surgido.

A faringite é caracterizada por inflamação local e febre (**Figura 24.3**). Com frequência ocorre tonsilite, e os linfonodos do pescoço tornam-se inchados e sensíveis. Outra complicação frequente é a otite média (veja a página 679).

Hoje, a faringite é mais comumente transmitida pelas secreções respiratórias, mas epidemias de faringite estreptocócica disseminadas por leite não pasteurizado já foram frequentes no passado.

Febre escarlate/escarlatina

Quando a amostra de *Streptococcus pyogenes* que causa a faringite estreptocócica produz uma *toxina eritrogênica*, a infecção resultante é chamada de **febre escarlate** ou **escarlatina**. Quando a amostra produz essa toxina, a bactéria foi antes infectada por um bacteriófago lisogênico (veja a Figura 13.12, página 382). Lembre-se de que isso significa que a informação genética de um bacteriófago (vírus bacteriano) foi incorporada ao cromossomo da bactéria, de modo que as características da bactéria foram alteradas. A toxina causa uma erupção de cor avermelhada na pele, que é provavelmente uma reação de hipersensibilidade da pele à toxina circulante, e também febre alta. A língua adquire uma aparência manchada, semelhante a um morango; a seguir, quando ela perde sua membrana superior, torna-se muito vermelha e aumentada. Classicamente, considera-se que a febre escarlate esteja associada com a faringite estreptocócica, mas pode acompanhar uma infecção estreptocócica da pele.

Com o passar do tempo, a incidência de febre escarlate tem variado em gravidade e frequência. Hoje ela é uma doença relativamente branda e rara.

Difteria

Outra infecção bacteriana do trato respiratório superior é a **difteria**. Até 1935, foi a principal causa de mortes em crianças nos Estados Unidos. A doença começa com dor de garganta e febre, seguidas de indisposição e edema do pescoço. O organismo responsável

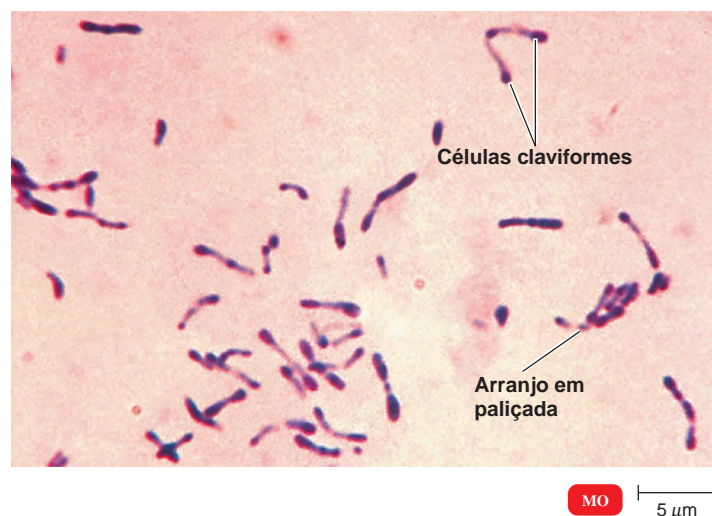



Figura 24.4 ***Corynebacterium diphtheriae*, a causa da difteria.** Esta coloração de Gram mostra a morfologia claviforme; observa-se que as células em divisão geralmente se dobram em conjunto para formar figuras em forma de V ou Y. Observe também o arranjo em paliçada lado a lado.

P As corinebactérias são gram-positivas ou gram-negativas?

Figura 24.5 Uma membrana diftérica. Em crianças pequenas, esta membrana coriácea e o edema das passagens respiratórias podem bloquear o suprimento de ar.

P O que é difteria cutânea?

é o *Corynebacterium diphtheriae*, um bastonete gram-positivo não formador de esporos. Sua morfologia é pleomórfica, frequentemente claviforme, e que não se cora homogeneamente (**Figura 24.4**)

Parte do programa de imunização infantil nos Estados Unidos inclui a **vacina DTaP**. A letra D representa o toxoide da difteria, uma toxina inativada que faz com que o corpo produza anticorpos contra a toxina diftérica.*

C. diphtheriae adaptou-se à população imunizada em geral, e amostras relativamente não virulentas são encontradas na garganta de muitos portadores assintomáticos. A bactéria está bem adaptada à transmissão pelo ar e é muito resistente ao ressecamento.

Uma membrana cinzenta rígida que se forma na garganta em resposta à infecção é característica da difteria (da palavra grega para couro) (**Figura 24.5**). Ela contém fibrina, tecido morto e células bacterianas que podem bloquear completamente a passagem de ar para os pulmões.

Embora as bactérias não invadam os tecidos, aquelas que sofrerem infecção por um fago lisogênico podem produzir uma exotoxina poderosa. Historicamente, foi a primeira doença para a qual uma causa tóxica foi identificada. Circulando na corrente sanguínea, a toxina interfere com a síntese proteica. Somente 0,01 mg dessa toxina altamente virulenta pode ser fatal. Desse modo, para que a terapia antitoxina seja eficaz, ela deve ser administrada antes que a toxina entre nas células dos tecidos. Quando órgãos como o coração e os rins são afetados pela toxina, a doença pode ser rapidamente fatal. Em outros casos, os nervos podem ser envolvidos, resultando em paralisia parcial.

O número de casos de difteria registrados nos Estados Unidos a cada ano é de cinco ou menos. Em crianças mais novas, a doença ocorre principalmente em grupos que não foram imunizados por razões religiosas ou outras. Quando a difteria era mais comum, contatos repetidos com amostras toxigênicas reforçavam a imunidade, que de outro modo enfraquece com o tempo. Muitos adultos hoje não têm imunidade, pois a imunização de rotina era menos acessível em sua infância. Algumas pesquisas indicam níveis imunes eficazes em apenas 20% da população adulta. Nos Estados Unidos, quando qualquer trauma em adultos requer o toxoide tetânico, geralmente combina-se esse toxoide com o da difteria (vacina Td).

A difteria também é expressa como **difteria cutânea**. Nessa forma da doença, o *C. diphtheriae* infecta a pele, geralmente em um ferimento ou lesão similar, e há circulação sistêmica mínima da toxina. Nas infecções cutâneas, as bactérias causam ulcerações de cura lenta, recobertas por uma membrana cinzenta. A difteria cutânea é muito comum em países tropicais. Nos Estados Unidos, ela ocorre entre índios norte-americanos e em adultos de baixo nível socioeconômico. Ela é responsável por muitos dos casos registrados de difteria em pessoas com mais de 30 anos.

No passado, a difteria era disseminada principalmente para portadores sadios através de infecção via gotículas de saliva. Já foram relatados casos respiratórios que surgiram do contato com a difteria cutânea.

O diagnóstico laboratorial por identificação bacteriana é difícil, exigindo meios seletivos e diferenciais. A identificação é complicada pela necessidade de distinguir entre os isolados produtores de toxina e as amostras que não são toxigênicas; ambos podem ser encontrados no mesmo paciente.

Mesmo que antibióticos como a penicilina e a eritromicina controlem o crescimento das bactérias, eles não neutralizam a toxina diftérica. Assim, os antibióticos devem ser usados apenas em associação com a antitoxina.

* N. de T. No Brasil, o calendário de vacinação infantil prevê a administração da vacina tetravalente **DTP-Hib** (difteria, tétano e coqueluche) adicionada de **Hib** contra infecções causadas pelo *Haemophilus influenzae* b.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Dentre a faringite estreptocócica, a febre escarlate e a difteria, duas são doenças causadas geralmente pelo mesmo gênero de bactéria. Quais são elas? **24-4**

Otite média

Uma das complicações mais desconfortáveis do resfriado comum, ou de qualquer infecção do nariz ou da garganta, é a infecção do ouvido médio, a **otite média**, ou dor de ouvido. Os patógenos causam a formação de pus, que aumenta a pressão contra o tímpano e faz com que se torne inflamado e dolorido (**Figura 24.6**). A condição é mais frequente na infância, pois a tuba auditiva que conecta o ouvido médio à garganta é pequena e mais horizontal que nos adultos, sendo mais facilmente bloqueada pela infecção (veja a Figura 24.6).

Várias bactérias podem causar otite média. O patógeno mais comumente isolado é o *S. pneumoniae* (cerca de 35% dos casos). Outras bactérias frequentemente envolvidas são *H. influenzae* não encapsulado (20 a 30%), *Moraxella catarrhalis* (10 a 15%), *S. pyogenes* (8 a 10%) e *S. aureus* (1 a 2%). Em cerca de 3 a 5% dos casos, nenhuma bactéria pode ser detectada. Nessas ocasiões, as infecções virais podem ser as responsáveis. Vírus sinciciais respiratórios (veja a página 692) são os isolados mais comuns.

A otite média afeta 85% das crianças com menos de três anos e é responsável por quase metade das consultas com pediatras – um número estimado em oito milhões de casos a cada ano nos Estados Unidos. O tratamento sempre presume que as bactérias sejam a causa, e estima-se que as infecções de ouvido sejam responsáveis por aproximadamente um quarto das prescrições de antibióticos. Penicilinas de amplo espectro, como a amoxicilina, geralmente são a primeira opção para as crianças. Muitos médicos atualmente questionam o valor dos antibióticos, por não haver certeza se essas drogas diminuem o curso da doença. Existe uma vacina conjugada que pode prevenir a pneumonia causada por *S. pneumoniae*. A experiência tem mostrado que a vacina apresenta o efeito colateral benéfico de reduzir a incidência de otite média em 6 a 7%. Essa redução pode não parecer grande, mas significa mais de um milhão de casos todos os anos.

Doenças virais do trato respiratório superior

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-5 Listar os agentes causadores e os tratamentos do resfriado comum.

Provavelmente, a doença mais prevalente nos seres humanos, pelo menos entre aqueles que vivem em regiões temperadas, é uma doença viral que afeta o trato respiratório superior – o resfriado comum.

Resfriado comum

Vários vírus diferentes estão envolvidos na etiologia do **resfriado comum**. Cerca de 50% de todos os resfriados são causados por *Rhinovirus*. Os *Coronavirus* provavelmente causam outros 15 a 20%. Cerca de 10% de todos os resfriados são causados por vários outros vírus. Em cerca de 40% dos casos, nenhum agente causador pode ser identificado.

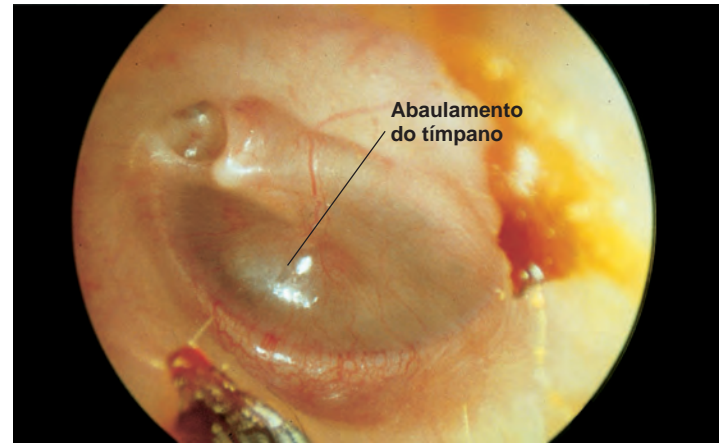



Figura 24.6 **Otite média aguda com abaulamento do tímpano.**

P **Qual é a bactéria mais comum que causa as infecções do ouvido médio?**

Ao longo de nossa vida, temos a tendência de acumular imunidades contra os vírus do resfriado. Isso pode explicar por que pessoas mais velhas tendem a contrair menos resfriados. A imunidade é baseada na proporção de anticorpos IgA para sorotipos únicos e apresenta uma eficácia a curto prazo razoavelmente alta. Populações isoladas podem desenvolver uma imunidade de grupo, e seus resfriados desaparecem até que um novo conjunto de vírus seja introduzido. Ao todo, provavelmente mais de 200 agentes causam o resfriado comum. Tratando-se de rinovírus, há pelo menos 113 sorotipos, de modo que uma vacina eficaz contra tantos patógenos diferentes parece inviável.

Os sintomas do resfriado comum nos são familiares. Eles incluem espirros, secreção nasal excessiva e congestão. A infecção pode se espalhar facilmente da garganta para os seios, o trato respiratório inferior e o ouvido médio, provocando complicações como laringite e otite média. O resfriado sem complicações geralmente não é acompanhado de febre.

Os rinovírus multiplicam-se muito bem a uma temperatura levemente abaixo da temperatura normal do corpo, como a que pode ser encontrada no trato respiratório superior, que está desprotegido em relação ao ambiente externo. Não se sabe exatamente por que o número de resfriados parece aumentar nas estações mais frias em regiões temperadas. Não se sabe se o contato mais próximo em ambientes fechados promove a transmissão da epidemia ou se alterações fisiológicas aumentam a suscetibilidade.

Uma única partícula de rinovírus depositada na mucosa nasal geralmente é suficiente para causar um resfriado. Entretanto, existe surpreendentemente pouco consenso de como os vírus que causam o resfriado são transmitidos para um local no nariz. Experimentos com cobaias e vírus da influenza mostram que os vírus tendem a ser carreados por gotículas de vapores de água dispersas pelo ar. No ar seco (baixa umidade) típico de baixas temperaturas, as gotículas são menores e permanecem no ar por mais tempo, facilitando a transmissão de pessoa a pessoa. Ao mesmo tempo, o ar mais frio faz com que os cílios do elevador ciliar trabalhem mais lentamente, permitindo que as partículas virais inaladas se espalhem no trato respiratório superior.

Uma série de experimentos envolvendo um grupo de jogadores de cartas, metade com resfriado e metade sem resfriado, sustentou a hipótese da transmissão pelo ar. Metade dos jogadores saudáveis não podia tocar o nariz, de modo a não haver transferência dos vírus adquiridos nas cartas. A outra metade não sofreu essa restrição. O jogador que não podia tocar o nariz contraía o resfriado do mesmo modo que aquele que podia tocar – um argumento a favor da transmissão pelo ar. Mesmo quando participantes saudáveis de jogos de cartas eram colocados em uma sala separada daqueles com resfriado e isolados das secreções transmitidas pelo ar, mas manuseavam cartas literalmente ensopadas em secreções nasais, nenhum desenvolveu resfriado. Em uma série talvez menos repelente de experimentos, pesquisadores pediram a voluntários saudáveis para beijar as vítimas de resfriado por 60 a 90 segundos; somente 8% dos voluntários adoeceram com resfriado.

Como os resfriados são causados por vírus, os antibióticos não têm utilidade no tratamento. Não houve relatos do tempo de recuperação ter sido afetado pelas drogas da venda livre, sem necessidade de prescrição médica, atualmente disponíveis, como pastilhas de zinco ou vitamina C. Os sintomas podem ser aliviados por xaropes antitussígenos e anti-histamínicos, mas essas medicações não aceleram a recuperação. O adágio médico ainda é verdadeiro: um resfriado não tratado vai seguir seu curso normal para recuperação em uma semana, enquanto com tratamento, vai levar sete dias.

Contudo, novas abordagens promissoras para reduzir a duração do resfriado comum estão sendo testadas. Quase todos os rinovírus, que estão entre os vírus mais comuns causadores de resfriado, usam o mesmo receptor de proteína nas células do hospedeiro para adsorver e infectar as células que revestem as passagens nasais. Um melhor entendimento dos mecanismos de interação vírus-hospedeiro é considerado a chave para uma terapia de sucesso contra os resfriados.

As doenças que afetam o trato respiratório superior estão resumidas em Doenças em Foco 24.1.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais vírus, rinovírus ou coronavírus, causam cerca da metade dos resfriados comuns? **24-5**

DOENÇAS MICROBIANAS DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR

O trato respiratório inferior pode ser infectado por muitas das bactérias e vírus que infectam o trato respiratório superior. À medida que os brônquios tornam-se envolvidos, a **bronquite** ou **bronquiolite** se desenvolve (veja a Figura 24.2). Uma complicação grave da bronquite é a **pneumonia**, em que os alvéolos pulmonares estão envolvidos.

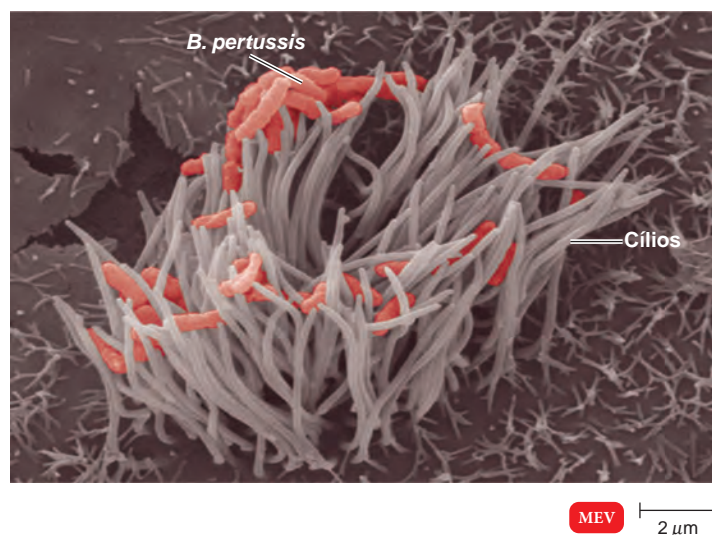



Figura 24.7 Células ciliadas do sistema respiratório infectadas com *Bordetella pertussis*. As células de *B. pertussis* (em laranja) podem ser vistas crescendo sobre os cílios; elas eventualmente causarão a perda das células ciliadas.

P Qual é o nome da toxina, produzida pela *Bordetella pertussis*, que causa a perda dos cílios?

Doenças bacterianas do trato respiratório inferior

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

24-6 Listar o agente causador, os sintomas, a prevenção, o tratamento preferencial e os testes de identificação laboratorial para a coqueluche e a tuberculose.

24-7 Comparar e contrastar as sete pneumonias bacterianas discutidas neste capítulo.

24-8 Listar a etiologia, o método de transmissão e os sintomas da melioidose.

As doenças bacterianas do trato respiratório inferior incluem a tuberculose e muitos tipos de pneumonia causados por bactérias. As doenças menos conhecidas como a psitacose e a febre Q também se incluem nessa categoria.

Coqueluche (tosse comprida)

P&R A infecção pela bactéria *Bordetella pertussis* resulta na **coqueluche**, ou **tosse comprida**. *B. pertussis* é um cocobacilo gram-negativo pequeno, aeróbico obrigatório. As linhagens virulentas possuem uma cápsula. As bactérias fixam-se especificamente às células ciliadas na traqueia, primeiro impedindo sua ação e então progressivamente destruindo-as (**Figura 24.7**). Isso impede o movimento do muco pelo sistema do *elevador ciliar*. A *B. pertussis* produz várias toxinas. A *citotoxina traqueal*, uma fração da parede celular da bactéria, é responsável pela lesão às células ciliadas, e a *toxina pertussis* entra na corrente sanguínea e está associada aos sintomas sistêmicos da doença.

DOENÇAS EM FOCO 24.1

Inchaço dos linfonodos, característico desta doença.

Doenças microbianas do trato respiratório superior

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de possíveis doenças que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os estudos laboratoriais. O diagnóstico diferencial para as seguintes doenças em geral tem como base os sintomas clínicos, e raspados de garganta podem ser utilizados para a cultura bacteriana. Por exemplo, um paciente apresenta-se com um quadro febril e garganta vermelha e dolorida. Mais tarde, uma membrana acinzentada aparece na garganta. Bacilos gram-positivos foram cultivados a partir da membrana. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Doença	Patógeno	Sintomas	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS			
Epiglotite	*Haemophilus influenzae*	Inflamação da epiglote	Antibióticos; manutenção das via aéreas Prevenção: vacina Hib
Faringite estreptocócica	*Streptococcus*, especialmente *Streptococcus pyogenes*	Membranas mucosas da garganta inflamadas	Penicilina
Febre escarlate/escarlatina	Amostras de *Streptococcus pyogenes* produtoras de toxina eritrogênica	Exotoxina estreptocócica causa vermelhidão na pele e na língua e descamação da pele afetada	Penicilina
Difteria	*Corynebacterium diphtheriae*	Forma-se uma membrana na garganta; a forma cutânea também ocorre	Penicilina e antitoxina Prevenção: vacina DTaP*
Otite média	Muitos agentes, especialmente *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneunomiae* e *Haemophilus influenzae*	Acúmulo de pus no ouvido médio causando dor e pressão no conduto auditivo	Antibióticos de amplo espectro Prevenção: vacina pneumocócica
DOENÇA VIRAL			
Resfriado comum	Rinovírus, coronavírus	Sintomas familiares de tosse, espirros e coriza	Suporte

* N. de T. No Brasil, DTP-Hib.

Uma doença que ocorre principalmente na infância, a coqueluche pode ser bastante grave. O estágio inicial, denominado *estágio catarral*, lembra um resfriado comum. Acessos prolongados de tosse caracterizam o *estágio paroxístico*, ou segundo estágio. (O nome *pertussis* deriva do latim *per* = extensa, e *tussis* = tosse.) Quando a ação ciliar é comprometida, o muco acumula-se, e a pessoa infectada tenta desesperadamente tossir esses acúmulos de muco. A violência da tosse em crianças pequenas pode até resultar em costelas quebradas. A ânsia por ar entre as tosses causa um som uivante, daí o nome vulgar da doença (tosse comprida). Os episódios de tosse ocorrem várias vezes por dia durante um período de 1 a 6 semanas. O *estágio de convalescença*, ou terceiro estágio, pode durar meses. Uma vez que os lactentes são menos capazes de lidar com o esforço da tosse para manter uma via aérea, ocasionalmente sofrem lesão irreversível no cérebro.

O diagnóstico da coqueluche depende principalmente dos sinais e dos sintomas clínicos. A epidemiologia da coqueluche tem se modificado. Anteriormente, uma vacina morta, contendo a célula bacteriana inteira, foi introduzida na década de 1940. Nessa época, a coqueluche era a principal doença afetando quase toda a população de crianças com menos de 10 anos. Era esperado que mais da metade das crianças se infectasse antes de iniciar a fase escolar. A introdução da vacina tríplice DTP (difteria, tétano e coqueluche) levou a uma diminuição dos casos. Entretanto, desde os anos de 1980 o número de casos aumentou significativamente (com um pico em 2004 de cerca de 26.000), com a população de adolescentes e adultos também sendo afetada.

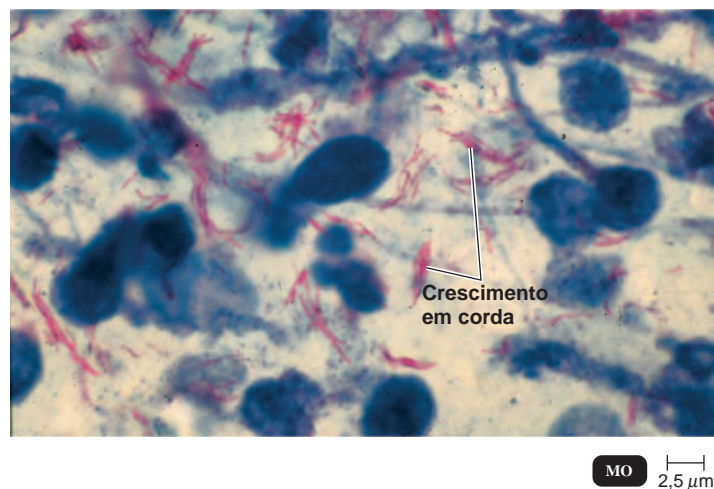



Figura 24.8 ***Mycobacterium tuberculosis.*** O crescimento filamentoso, semelhante a um crescimento fúngico, corado em vermelho mostrado aqui em um esfregaço de tecido pulmonar é responsável pelo nome do organismo. Sob outras condições, ele cresce como bacilos delgados individuais. Um componente céreo da célula, o fator corda, é responsável por este arranjo em forma de cordão. Uma injeção do fator corda causa efeitos patogênicos exatamente como aqueles causados pelos bacilos da tuberculose.

P Que características desta bactéria sugerem o uso do prefixo *myco*?

Novas vacinas desenvolvidas para utilização em adolescentes e adultos (Tdap) são recomendadas para aumentar a imunidade quando a efetividade da vacinação infantil diminui. Há muitas razões para essa diminuição. A imunidade da vacina DTP diminui em poucos anos e quase não há proteção após os 12 anos de idade. Não se sabe ao certo quanto tempo dura a proteção oferecida pelas novas vacinas acelulares para crianças (DTaP). No passado, o contato com casos de coqueluche leve ou não reconhecida fornecia às pessoas vacinadas um efeito amplificador, o que ajudou no controle da doença. Finalmente, a introdução dos testes diagnósticos de PCR, que são muito mais sensíveis, tem levado a um aumento dos casos relatados em crianças mais velhas e adultos. Essa situação é denominada *pseudoepidemia*. O diagnóstico da coqueluche tem como base principalmente os sinais clínicos e os sintomas. O patógeno pode ser cultivado de amostras da garganta, coletadas com o uso de uma alça fina que é inserida no nariz e mantida na garganta enquanto o paciente tosse. A cultura do patógeno requer muitos cuidados. Como alternativa à cultura, o método de PCR também pode ser utilizado para testar o raspado para a presença do patógeno, um procedimento requerido para o diagnóstico da doença em lactentes.

O tratamento da coqueluche com antibióticos, mais comumente eritromicina ou outros macrolídeos, não é efetivo após o início do estágio de tosse paroxístico, porém pode reduzir a transmissão.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Outro nome para coqueluche é tosse comprida. Esse sintoma é causado pelo ataque do patógeno a que tipo de célula? **24-6**

Tuberculose

A **tuberculose** (**TB**) é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, um bastonete delgado, aeróbico obrigatório. Os bastonetes crescem lentamente (20 horas ou mais de tempo de geração), algumas vezes formam filamentos e tendem a crescer em cachos (**Figura 24.8**). Na superfície de um meio líquido, seu crescimento parece ter a forma de um bolor, o que sugeriu o nome do gênero *Mycobacterium* (*myco* = fungo).

As micobactérias coradas com carbol-fucsina não podem ser descoradas com ácido ou álcool, e assim, são classificadas como *álcool-ácido resistentes* (veja a página 70). Essa característica reflete a composição incomum da parede celular, que contém grandes quantidades de lipídeos. Esses lipídeos também podem ser responsáveis pela resistência da micobactéria a estresses ambientais, como o ressecamento. De fato, essas bactérias podem sobreviver por semanas em escarro seco e são muito resistentes aos antimicrobianos químicos usados como antissépticos e desinfetantes (veja a Tabela 7.7, página 203).

A tuberculose é um exemplo especialmente bom do equilíbrio ecológico entre o hospedeiro e o parasita na doença infecciosa. Um hospedeiro geralmente não está consciente dos patógenos que invadem o corpo e são derrotados. Se as defesas imunológicas falham, contudo, o hospedeiro fica consciente da doença resultante.

Vários fatores podem afetar os níveis de resistência do hospedeiro: a presença de outra doença e fatores fisiológicos e ambientais como a desnutrição, as aglomerações e o estresse. Uma trágica demonstração da variação individual em resistência foi o desastre de Lübeck na Alemanha em 1926. Devido a um erro, 249 bebês foram inoculados com bactérias virulentas da tuberculose em vez da vacina com linhagens atenuadas. Embora todos tenham recebido o mesmo inóculo, apenas 76 mortes ocorreram, e os demais bebês não ficaram seriamente doentes.

A TB mais comumente adquirida através da inalação do bacilo. Somente as partículas muito finas, contendo de 1 a 3 bacilos, alcançam os pulmões, onde geralmente são fagocitadas por um macrófago nos alvéolos (veja a Figura 24.2). Os macrófagos de pessoas saudáveis tornam-se ativados pela presença dos bacilos, e em geral os destroem.

Patogênese da tuberculose

A **Figura 24.9** mostra a patogênese da TB. Um fator importante na patogênese da micobactéria é o fato de que o ácido micólico da parede celular estimula bastante a resposta inflamatória no hospedeiro. A figura mostra uma situação em que as defesas do corpo falham e a doença progride para um desfecho fatal. Entretanto, pessoas mais saudáveis irão bloquear uma infecção potencial com macrófagos ativados, especialmente se a dose infectante for baixa.

1–**2** Se a infecção progredir, o hospedeiro isola os patógenos em uma lesão fechada, denominada *tubérculo* (significando protrusão ou massa), uma característica que dá à doença seu nome.

3–**4** Quando a doença é interrompida neste ponto, as lesões cicatrizam lentamente, tornando-se calcificadas. Elas são mos-

Figura 24.9 A patogênese da tuberculose. Esta figura representa a progressão da doença quando as defesas do organismo falham. Na maioria dos indivíduos saudáveis, a infecção é interrompida e a tuberculose fatal não se desenvolve.

P Quase um terço da população mundial é infectado com o *Mycobacterium tuberculosis*. O estudo desta figura mostra por que o mesmo terço da população mundial não desenvolve a tuberculose?

Figura 24.10 Um teste cutâneo de tuberculina positivo em um braço.

P O que indica um teste cutâneo de tuberculina positivo?

tradas claramente nos raios X, e são denominadas *complexos de Ghon* (a tomografia computadorizada [TC] é mais sensível que os raios X para detectar lesões por TB).

5. Se as defesas do corpo falham nesse estágio, o tubérculo se rompe e libera bacilos virulentos nas vias aéreas do pulmão, e então nos sistemas cardiovascular e linfático.

A tosse, o sintoma mais evidente da infecção pulmonar, também espalha a infecção pelas bactérias nos aerossóis. O escarro pode se tornar sanguinolento quando os tecidos são lesionados, e algumas vezes os vasos sanguíneos podem se tornar tão erodidos que se rompem, resultando em hemorragia fatal. A infecção disseminada é denominada *tuberculose miliar* (o nome é derivado dos numerosos tubérculos do tamanho de sementes ou grãos, formados nos tecidos infectados). As defesas restantes do corpo são suplantadas, e o paciente apresenta perda de peso, tosse (frequentemente com escarro sanguinolento) e uma perda geral de vigor. Antigamente, a TB era conhecida pelo nome comum *tísica* (fraqueza).

Tratamento da tuberculose

O primeiro antibiótico efetivo no tratamento da TB foi a estreptomicina, introduzida em 1944. Este tratamento ainda está em uso, mas agora esta droga é considerada de segunda linha. O tratamento atual para a TB recomendado pela Organização Mundial da Saúde, requer a adesão dos pacientes a um mínimo de seis meses de antibioticoterapia, que inclui três ou quatro drogas. Como muitos pacientes perdem a confiança em seguir um regime tão prolongado, há um aumento da emergência de resistência. As duas drogas mais potentes anti-TB são a isoniazida e a rifampina (também conhecida com rifampicina). Outras drogas de primeira linha também aprovadas pela FDA incluem a pirazinamida, a rifapentina e o etambutol – ao todo, cerca de 10 drogas são aprovadas para o tratamento da TB, sendo muitas consideradas escolhas secundárias. O tratamento prolongado é necessário, pois o bacilo da TB cresce muito lentamente ou está em estado dormente (a única droga efetiva contra bacilos dormentes é a pirazinamida), e muitos antibióticos somente são efetivos contra as células em crescimento. Além disso, o bacilo pode ser ocultado por longos períodos nos macrófagos ou em outras localizações difíceis de alcançar com os antibióticos. Terapia de múltiplas drogas é necessária para minimizar o surgimento de amostras resistentes.

Há a necessidade de uma abordagem nova; a rifampina, a última droga anti-TB importante, foi introduzida décadas atrás. Deve ser desenvolvida uma droga ou drogas que reduzam o tempo de tratamento para menos de três meses de duração, que matem os bacilos persistentes que possam se reativar mais tarde e que sejam ativas contra linhagens *resistentes a múltiplas drogas* (*MDRs*, de *multidrug resistant*).

Estudos têm revelado a presença não somente de tuberculose MDR (definida como resistência a drogas de primeira linha, como isoniazida e rifampina), mas também tuberculose de *extensiva resistência a drogas* (*XDR*, de *extensively drug-resistant*), definida como resistência a drogas de primeira linha e pelo menos três das seis principais drogas de segunda linha.

Atualmente, experimentos de interesse são focados em uma nova droga, a diarilquinolina. Testes em animais têm demonstrado especificidade no impedimento da síntese de ATP em micobactérias e efetividade em matar bacilos em crescimento ativo e em estado dormente.

Diagnóstico da tuberculose

As pessoas infectadas apresentando TB respondem com imunidade mediada por células contra a bactéria. Essa forma de resposta imunológica se desenvolve, em lugar da imunidade humoral, porque o patógeno está localizado principalmente dentro dos macrófagos. Essa imunidade, envolvendo células T sensibilizadas, é a base para o **teste cutâneo de tuberculina** (**Figura 24.10**), um teste de triagem para a infecção. Um teste positivo não indica necessariamente doença ativa. Nesse teste, uma proteína purificada derivada da bactéria da TB, obtida por precipitação de culturas em caldo, é injetada cutaneamente. Se a pessoa injetada foi infectada com TB no passado, as células T sensibilizadas reagem com essas proteínas e ocorre uma reação de hipersensibilidade tardia, em cerca de 48 horas. Essa reação surge como uma induração (endurecimento) e avermelhamento da área em torno do local de injeção. Provavelmente, o teste mais preciso de tuberculina é o *teste de Mantoux*, no qual diluições de 0,1 mL de antígeno são injetadas, e a área reativa da pele é medida.

Um teste de tuberculina positivo em crianças muito pequenas é uma indicação provável de um caso ativo de TB. Em pessoas mais velhas, pode indicar somente a hipersensibilidade resultante de uma infecção prévia ou vacinação, e não um caso atualmente ativo. Contudo, é uma indicação de que exames subsequentes são necessários, como um raio X de tórax ou uma TC para a detecção de lesões pulmonares, além de tentativas de isolar a bactéria.

O passo inicial no diagnóstico laboratorial de casos ativos é um exame microscópico de esfregaço, como o escarro. Esse pode ser um exame convencional com coloração álcool-ácida ou o teste mais específico de microscopia com anticorpos fluorescentes. A confirmação da TB pelo isolamento da bactéria é complicada pelo

crescimento muito lento do patógeno. A formação da colônia pode levar de 3 a 6 semanas, com o término de uma série confiável de identificação levando outras 3 a 6 semanas. Tem havido considerável progresso no desenvolvimento de testes de diagnóstico rápido. Sondas de DNA estão disponíveis para identificar isolados cultivados (veja a Figura 10.16, página 292). Diversos novos testes têm sido introduzidos, utilizando métodos de PCR, que são capazes de detectar *M. tuberculosis* diretamente do escarro ou de outras amostras (veja a página 291). Muitos testes novos detectam a presença de interferon gama (IFN-γ) em amostras de sangue, o qual é liberado pelas células T em resposta a certos antígenos de *M. tuberculosis*. Há evidências de que, em comparação ao teste cutâneo, este novo teste possui muito mais especificidade e menor reatividade cruzada com a vacinação BCG (veja a discussão sobre as vacinas de TB em seguida). Porém, ele não distingue infecção latente de infecção ativa. A determinação da resistência a drogas pelo método de cultivo convencional é uma metodologia longa e de trabalho intenso. Entretanto, a resistência à rifampina é invariavelmente um marcador de MDR, podendo ser detectado mais rapidamente que certos métodos moleculares. Há também interesse em novos ensaios de *suscetibilidade a drogas pela observação ao microscópio* (*MODS*, de *microscopic-observation-drug-susceptibility*). A bactéria cresce mais rapidamente em meio líquido que em meio sólido, e o exame microscópico pode detectar precocemente características como a formação do cordão com a exposição a diferentes drogas.

Outra espécie de micobactéria, *Mycobacterium bovis*, é um patógeno principalmente do gado. O *M. bovis* é a causa da **tuberculose bovina**, que é transmitida aos seres humanos através do leite ou de alimentos contaminados. A tuberculose bovina responde por menos de 1% dos casos de TB nos Estados Unidos. Ela raramente se dissemina entre seres humanos, mas antes da era do leite pasteurizado e do desenvolvimento de métodos de controle como o teste de tuberculina do rebanho, esta doença era uma forma frequente de TB em seres humanos. As infecções por *M. bovis* causam uma TB que afeta principalmente os ossos ou o sistema linfático. Antigamente, uma manifestação comum desse tipo de TB era a deformação da coluna em forma de corcunda.

Outras doenças micobacterianas também afetam as pessoas nos estágios avançados da infecção por HIV. Em sua maioria, os isolados são de um grupo relacionado de organismos conhecidos como complexo *M. avium-intracellulare*. Na população em geral, as infecções por esses patógenos são raras.

Vacinas contra tuberculose

A **vacina BCG** é uma cultura viva de *M. bovis* que foi tornada avirulenta pelo longo cultivo em meios artificiais (BCG significa bacilo de Calmette e Guerin, as pessoas que originalmente isolaram a linhagem). A vacina BCG está disponível desde a década de 1920 e é uma das mais usadas em todo o mundo. Em 1990, foi estimado que 70% das crianças em idade escolar em todo o mundo a receberam. Nos Estados Unidos, contudo, ela é recomendada atualmente apenas para certas crianças em alto risco que apresentam testes cutâneos negativos. As pessoas que receberam a vacina mostram uma reação positiva aos testes de tuberculina. Este sempre foi um argumento contra seu uso disseminado nos Estados Unidos. Outro argumento contra a administração universal da BCG é sua eficácia irregular. A experiência mostra que ela é bastante eficaz quando administrada para crianças pequenas, mas para adolescentes e adultos, algumas vezes, a eficácia se aproxima do zero. Além disso, há a indicação de que as crianças infectadas pelo HIV, que necessitam desta vacina com mais frequência, poderão desenvolver uma infecção fatal a partir da vacina BCG. Um trabalho recente indica que a exposição a membros do complexo *M. avium-intracellulare* ambiental podem interferir com a eficácia da vacina BCG – o que pode explicar a razão da vacina ser mais eficiente no começo da vida, antes da exposição excessiva às micobactérias ambientais. Novas vacinas estão em fase experimental.

Incidência mundial da tuberculose

A TB tem emergido como uma epidemia global (**Figura 24.11a**). Estima-se que nove milhões de pessoas desenvolvam TB ativa a cada ano e que as infecções resultam em mais de dois milhões de mortes anuais. Provavelmente um terço da população mundial é infectado. Além disso, HIV e TB são quase inseparáveis, e a TB é a doença que lidera diretamente as causas de morte na maioria da população mundial infectada pelo HIV. A maior parte dos casos nos Estados Unidos, geralmente em torno de 14.000 a cada ano, ocorre entre indivíduos estrangeiros (**Figura 24.11b**).

Mundialmente, o número de casos de TB está aumentando em cerca de 2% ao ano, e o número de casos MDR está se elevando mais rapidamente ainda. O tratamento de pacientes MDR nos Estados Unidos pode custar dezenas de milhares de dólares ao ano e é economicamente impraticável na maior parte do mundo. A TB permanece um dos principais problemas de saúde mundiais.

Pneumonias bacterianas

O termo *pneumonia* se aplica a muitas infecções pulmonares, a maioria das quais causada por bactérias. A pneumonia causada por *Streptococcus pneumoniae* é a mais comum, cerca de dois terços dos casos, sendo assim referida como *pneumonia típica*. Pneumonias causadas por outros micro-organismos, que podem incluir fungos, protozoários, vírus, bem como outras bactérias, são denominadas *pneumonias atípicas*. Essa distinção está se mostrando cada vez menos precisa na prática.

As pneumonias também são denominadas de acordo com a parte do trato respiratório inferior que elas afetam. Por exemplo, se os lobos do pulmão forem afetados, ela é denominada *pneumonia lobar*; pneumonias causadas por *S. pneumoniae* geralmente são deste tipo. A *broncopneumonia* indica que os alvéolos dos pulmões adjacentes aos brônquios estão infectados. *Pleurisia* frequentemente é uma complicação de várias pneumonias, em que as membranas pleurais tornam-se dolorosamente inflamadas (veja Doenças em Foco 24.2).

Pneumonia pneumocócica

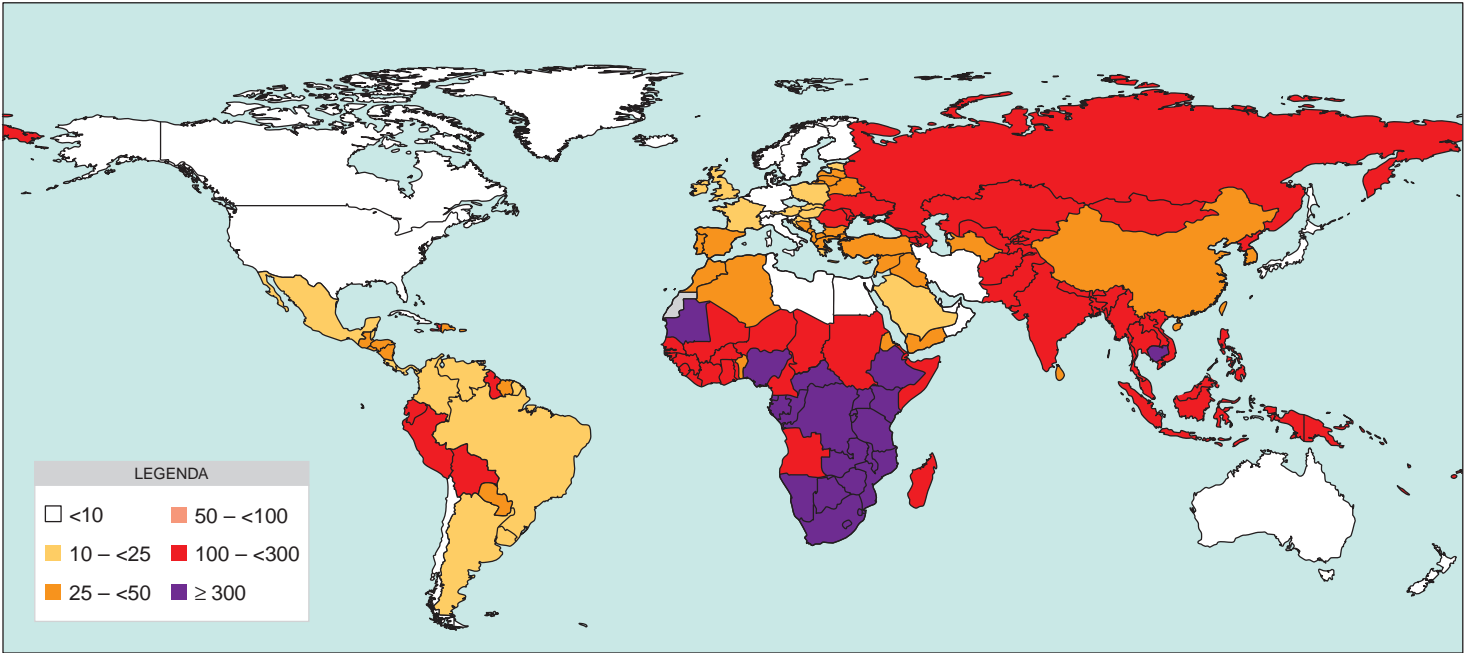
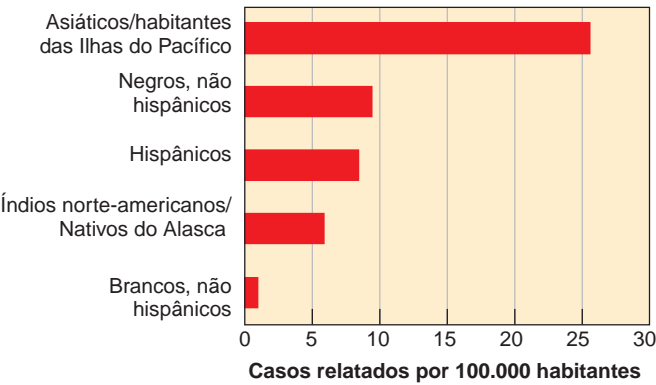
A pneumonia causada por *S. pneumoniae* é denominada **pneumonia pneumocócica**. *S. pneumoniae* é uma bactéria gram-positiva, ovoide (**Figura 24.12**). Esse micróbio também é uma causa comum de otite média, meningite e sepse. Os pares de células são circundados por uma cápsula densa que torna o patógeno resis-

(a) Incidência estimada da tuberculose no mundo, por uma população de 100.000 habitantes.

(b) Casos de tuberculose elatados por uma população de 100.000 habitantes entre grupos étnicos norte-americanos em 2007.

Figura 24.11 Distribuição da tuberculose. (a) Tuberculose no mundo. **(b)** Tuberculose nos Estados Unidos. Taxas entre grupos étnicos norte-americanos.

Fonte: Organização Mundial da Saúde (OMS), 2006; *MMWR* 54(53), 30 de abril de 2007.

P Como a tuberculose pode ser eliminada?

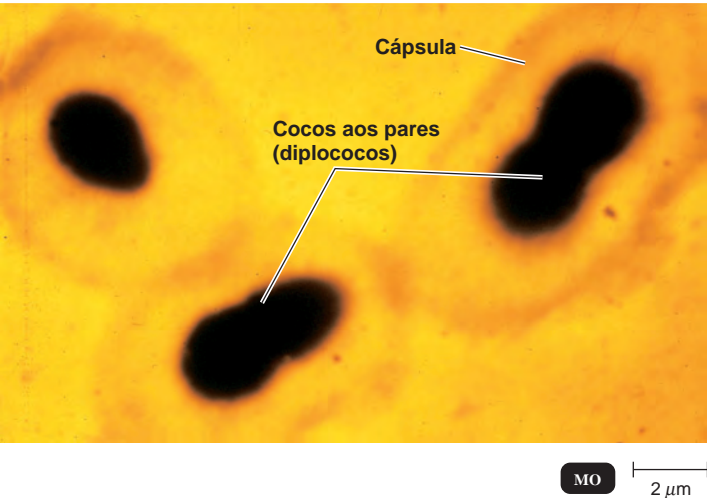



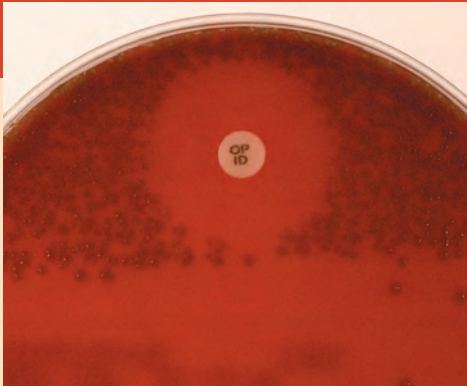
Figura 24.12 *Streptococcus pneumoniae*, a causa da pneumonia pneumocócica. Observe o arranjo das células aos pares. A cápsula tornou-se mais aparente nesta figura, pela reação com um antissoro pneumocócico específico que faz a cápsula parecer inchada.

P Qual componente da célula é o principal antígeno?

DOENÇAS EM FOCO 24.2

Pneumonias bacterianas comuns

A pneumonia é a principal causa de adoecimento e morte entre crianças em todo o mundo e a sétima causa de morte nos Estados Unidos. A pneumonia pode ser causada por uma variedade de vírus, bactérias e fungos. Para confirmar que a bactéria está causando a pneumonia, ela é isolada do sangue e, em alguns casos, de aspirado dos pulmões.

Por exemplo, um homem de 27 anos com um histórico de asma foi hospitalizado com uma história de quatro dias de tosse progressiva e dois dias com picos de febre. Cocos gram-positivos aos pares foram cultivados a partir de amostra de sangue. Utilize a tabela para identificar as infecções que poderiam causar estes sintomas.

Um teste de inibição da optoquina de bactéria cultivada em Agar Sangue.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Diagnóstico	Tratamento
Pneumonia pneumocócica	*Streptococcus pneumoniae*	Os alvéolos infectados dos pulmões se enchem de fluidos; interferência com o aporte de oxigênio	Seres humanos	Teste de inibição da optoquina positivo ou teste de solubilidade da bile; tipificação sorológica da bactéria	Penicilina, fluoroquinolonas Prevenção: vacina pneumocócica
Pneumonia por *Haemophilus influenzae*	*Haemophilus influenzae*	Os sintomas são semelhantes aos da pneumonia pneumocócica	Seres humanos	Isolamento; meio para requerimentos nutricionais especiais	Cefalosporinas
Pneumonia por micoplasma	*Mycoplasma pneumoniae*	Sintomas respiratórios leves, porém persistentes; febre baixa, tosse e dor de cabeça	Seres humanos	PCR e testes sorológicos	Tetraciclinas
Legionelose	*Legionella pneumophila*	Pneumonia potencialmente fatal	Água	Cultivo em meio seletivo, sonda de DNA	Eritromicina
Psitacose (ornitose)	*Chlamydophila psittaci*	Os sintomas, se existirem, são febre, dor de cabeça e calafrios	Aves	Crescimento bacteriano em ovos embrionados ou cultivo celular	Tetraciclinas
Pneumonia por clamídia	*Chlamydophila pneumoniae*	Doença respiratória leve; semelhante à pneumonia por micoplasma	Seres humanos	Testes sorológicos	Tetraciclinas
Febre Q	*Coxiella burnetti*	Doença respiratória leve com duração de 1 a 2 semanas; complicações ocasionais como endocardite podem ocorrer	Grandes mamíferos; carrapatos vetores; pode ser transmitida pelo leite não pasteurizado	Crescimento em cultivo celular	Doxiciclina e cloroquina

tente à fagocitose. Essas cápsulas também são a base da diferenciação sorológica dos pneumococos em pelo menos 90 sorotipos. Antes que a antibioticoterapia se tornasse disponível, antissoros dirigidos contra esses antígenos capsulares foram usados para tratar a doença.

A pneumonia pneumocócica envolve ambos os brônquios e os alvéolos (veja a Figura 24.2). Os sintomas incluem febre alta, dificuldade de respirar e dor torácica. (As pneumonias atípicas geralmente possuem um início mais lento e menos febril com dor torácica.) Os pulmões têm um aspecto avermelhado, pois os vasos sanguíneos estão dilatados. Em resposta à infecção, os alvéolos se enchem com algumas hemácias e neutrófilos (veja a Tabela 16.1, página 455) e líquido dos tecidos circundantes. O escarro frequentemente tem cor de ferrugem pelo sangue proveniente dos pulmões, vindo com a tosse. Os pneumococos podem invadir a corrente sanguínea, a cavidade pleural que circunda o pulmão e, ocasionalmente, as meninges. Nenhuma toxina bacteriana foi relacionada claramente à patogenicidade.

Um diagnóstico presuntivo pode ser feito pelo isolamento do pneumococo da garganta, do escarro e de outros fluidos. Os

Figura 24.13 Colônias de *Mycoplasma pneumoniae*, a causa da pneumonia por micoplasma.

P Estas colônias poderiam ser vistas sem aumento?

pneumococos podem ser diferenciados de outros estreptococos α-hemolíticos observando a inibição do crescimento após um disco de optoquina (hidrocloreto de etilidrocupreína) ou realizando um teste de solubilidade da bile. Eles também podem ser tipados sorologicamente.

Existem muitos portadores saudáveis de pneumococos. A virulência das bactérias parece ser baseada principalmente na resistência do portador, que pode ser reduzida pelo estresse. Muitas doenças de adultos mais idosos terminam em pneumonia pneumocócica.

Uma recidiva de pneumonia pneumocócica não é incomum, mas os tipos sorológicos geralmente são diferentes. Antes da quimioterapia estar disponível, a taxa de mortalidade era de até 25%. Esta taxa foi reduzida agora para menos de 1% em pacientes mais jovens tratados precocemente no curso de sua doença. Para pacientes mais idosos internados em hospitais, a mortalidade pode se aproximar de 20%.

A resistência à penicilina tem sido um problema crescente, e muitas outras drogas, especialmente macrolídeos e fluoroquinolonas, estão sendo utilizadas em vez da penicilina.

Uma vacina pneumocócica conjugada foi introduzida e tem sido efetiva na prevenção da infecção pelos sete sorotipos que ela contém. Há também um efeito indireto mostrado pela redução de outras doenças, como a otite média, atribuída aos pneumococos.

Pneumonia por *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae é um cocobacilo gram-negativo, e uma coloração de Gram do escarro irá diferenciar entre tipo de pneumonia e pneumonia pneumocócica. Pacientes em condições como alcoolismo, desnutrição, câncer ou diabetes são especialmente suscetíveis. Na identificação diagnóstica do patógeno, é utilizado um meio especial que determina a necessidade dos fatores X e V (veja a página 311). Cefalosporinas de segunda geração são resistentes às β-lactamases produzidas pela maioria das amostras de *H. influenzae* e normalmente são as drogas de escolha.

Pneumonia por micoplasma

Os micoplasmas, que não possuem paredes celulares, não crescem sob as condições normalmente usadas para recuperar a maioria dos patógenos bacterianos. Devido a essa característica, as pneumonias causadas por micoplasma frequentemente são confundidas com pneumonias virais.

A bactéria *Mycoplasma pneumoniae* é o agente causador da **pneumonia por micoplasma**. Esse tipo de pneumonia foi descoberto quando essas infecções atípicas responderam às tetraciclinas, indicando que o patógeno não era viral. A pneumonia por micoplasma é um tipo comum de pneumonia em jovens adultos e crianças. Ela pode ser responsável por cerca de 20% das pneumonias, embora não seja uma doença de notificação compulsória. Os sintomas, que persistem por três semanas ou mais, incluem febre baixa, tosse e cefaleia. Ocasionalmente eles são graves o suficiente para necessitar de hospitalização. Outros termos para designar a doença são *pneumonia atípica primária* (isto é, a pneumonia mais comum não causada por pneumococos) e *pneumonia da caminhada*.

Quando isolados da garganta e escarro crescem em um meio contendo soro de equino e extrato de leveduras, eles formam colônias distintas com um aspecto de "ovo frito" (**Figura 24.13**). As colônias são tão pequenas que devem ser observadas por meio de ampliação. Os micoplasmas apresentam aspecto altamente variado, pois não possuem paredes celulares (veja a Figura 11.20, página 319).

O diagnóstico com base na recuperação dos patógenos pode não ser útil no tratamento, pois até três semanas ou mais podem ser necessárias para que os organismos de crescimento lento se desenvolvam. Contudo, os testes diagnósticos têm sido altamente aperfeiçoados nos últimos anos. Eles incluem testes sorológicos e de PCR que detectam anticorpos IgM contra *M. pneumoniae*.

O tratamento com antibióticos como as tetraciclinas normalmente induz o desaparecimento dos sintomas, mas não elimina as bactérias, as quais os pacientes continuam a carrear por muitas semanas.

Legionelose

A **legionelose**, ou **doença dos legionários**, recebeu atenção pública pela primeira vez em 1976, quando uma série de óbitos ocorreu entre membros da Legião Americana que haviam comparecido a uma reunião na Filadélfia. Uma vez que nenhuma causa bacteriana óbvia pode ser encontrada, as mortes foram atribuídas a uma pneumonia viral. A investigação cuidadosa, principalmente com técnicas dirigidas para localizar um agente riquetsial suspeito, acabou por identificar uma bactéria previamente desconhecida, um bastonete aeróbico gram-negativo agora conhecido como *Legionella pneumophila*, capaz de se replicar dentro dos macrófagos. Mais de 44 espécies de *Legionella* foram identificadas até o momento; nem todas causam doenças.

A doença é caracterizada por uma febre alta de 40,5°C, tosse e sintomas gerais de pneumonia. Não parece haver transmissão

interpessoal. Estudos recentes mostraram que a bactéria pode ser facilmente isolada de fontes naturais de água. Além disso, os micróbios podem crescer na água das torres de resfriamento de ar condicionado, o que pode significar que algumas epidemias em hotéis, distritos comerciais urbanos e hospitais foram causadas pela transmissão pelo ar. Surtos recentes foram rastreados até banheiras de hidromassagem, umidificadores, chuveiros, fontes decorativas e até mesmo terra para cultivo.

O organismo também foi encontrado habitando os encanamentos de água de muitos hospitais. A maioria dos hospitais mantém a temperatura das tubulações de água quente relativamente baixa (43 a 55°C) como medida de segurança e, nas partes mais frias do sistema, isso mantém inadvertidamente uma boa temperatura de crescimento para a *Legionella*. Essa bactéria é consideravelmente mais resistente ao cloro que a maioria das outras bactérias e pode sobreviver por longos períodos em água com baixo nível de cloração. Evidências indicam que a *Legionella* existe principalmente em biofilmes, que são altamente protetores. As bactérias com frequência são ingeridas por amebas transmitidas pela água, quando presentes, mas continuam a proliferar e podem então sobreviver encistadas dentro de amebas. O método de maior sucesso para a desinfecção da água em hospitais com necessidade de controle da contaminação por *Legionella* tem sido a instalação de sistemas de ionização por cobre-prata.

A doença parece agora ter sido sempre muito comum, mesmo quando não era reconhecida. Mais de mil casos são relatados a cada ano, mas a incidência real é estimada em mais de 25 mil casos por ano. Homens com mais de 50 anos têm maior probabilidade de contrair a legionelose, especialmente fumantes com sobrepeso, alcoólatras ou pessoas cronicamente doentes (veja o quadro na página 691).

A *L. pneumophila* também é responsável pela **febre de Pontiac**, que essencialmente é uma outra forma de legionelose. Seus sintomas incluem febre, dores musculares e geralmente tosse. A condição é leve e autolimitada. Durante surtos de legionelose, pode haver ocorrência de ambas as formas.

O melhor método diagnóstico é a cultura em um meio seletivo de extrato de levedura com carvão. O exame de amostras respiratórias pode ser feito por métodos de anticorpo fluorescente, e um teste com sonda de DNA também está disponível. A eritromicina e outros antibióticos macrolídeos, como a azitromicina, são as drogas de escolha para o tratamento.

Psitacose (ornitose)

O termo **psitacose** é derivado da associação da doença com aves psitacídeas, como periquitos e outros papagaios. Descobriu-se posteriormente que a doença também pode ser contraída de muitas outras aves, como pombos, galinhas, patos e perus. Assim, o termo mais geral **ornitose** entrou em uso.

O agente causador é a *Chlamydophila psittaci*, uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória. A taxonomia desse micro-organismo foi recentemente revisada. O nome do gênero tem como base a modificação de *Chlamydia* para *Chlamydophila*. Essa modificação taxonômica também foi realizada com *C. pneumoniae* (veja a discussão sobre pneumonia por clamídia a seguir). Continuaremos a utilizar os termos genéricos clamidial e clamídia. Uma das diferenças entre as clamídias e as riquétsias, que também são bactérias intracelulares obrigatórias, é que as clamídias formam pequenos **corpos elementares** como parte de seu ciclo de vida (veja a Figura 11.24, página 323). Ao contrário da maioria das riquétsias, os corpos elementares são resistentes ao estresse ambiental; assim, podem ser transmitidos pelo ar e não requerem uma mordida para transferir o agente infeccioso diretamente de um hospedeiro para outro.

A psitacose é uma forma de pneumonia que geralmente causa febre, cefaleia e calafrios. Infecções subclínicas são muito comuns, e o estresse parece aumentar a suscetibilidade à doença. Desorientação ou mesmo delírio, em alguns casos, indicam que o sistema nervoso pode estar envolvido.

A doença raramente é transmitida de um ser humano para outro, mas normalmente é disseminada pelo contato com as fezes e outras secreções da galinha. Um dos modos mais comuns de transmissão é a inalação de partículas secas de fezes. As aves em si geralmente têm diarreia, penas arrepiadas, doença respiratória e um aspecto geralmente letárgico. Normalmente (mas nem sempre) os periquitos e outros psitacídeos vendidos comercialmente estão livres da doença. Muitas aves transportam o patógeno em seu baço sem sintomas, adoecendo somente quando estressadas. Os funcionários de lojas de animais e as pessoas envolvidas na criação de perus estão sob maior risco de contrair a doença.

O diagnóstico é feito por isolamento da bactéria em ovos embrionados ou em cultura de células. Testes sorológicos podem então ser usados para identificar o organismo isolado. Não há vacina disponível, mas as tetraciclinas são antibióticos efetivos no tratamento de seres humanos e animais. A imunidade efetiva não resulta da recuperação, mesmo quando altos títulos de anticorpo estão presentes no soro.

A cada ano, menos de 100 casos e poucas mortes são relatados nos Estados Unidos. O principal risco é o diagnóstico tardio. Antes da antibioticoterapia estar disponível, a taxa de mortalidade era de cerca de 15 a 20%.

Pneumonia por clamídia

Surtos de uma doença respiratória em populações de estudantes de faculdades foram causados por um organismo clamidial. Originalmente, o patógeno era considerado uma linhagem de *C. psittaci*, mas agora recebeu o nome de *Chlamydophila pneumoniae*, e a doença é conhecida como **pneumonia clamidial**. Clinicamente, ela é semelhante à pneumonia por micoplasma. (Existe também uma forte evidência da associação entre a *C. pneumoniae* e a aterosclerose, a deposição de gorduras que bloqueia as artérias.)

A doença aparentemente é transmitida de uma pessoa para outra, provavelmente pela via respiratória. Quase metade da população dos Estados Unidos tem anticorpos contra o organismo, uma indicação de que essa é uma doença comum. Vários testes sorológicos são úteis no diagnóstico, mas os resultados são complicados por variações antigênicas. O antibiótico mais efetivo é a tetraciclina.

Febre Q

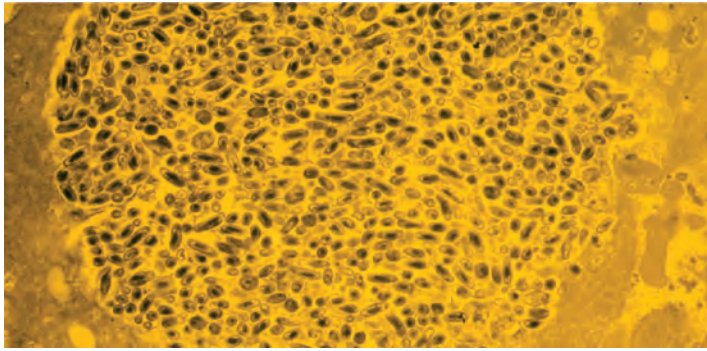
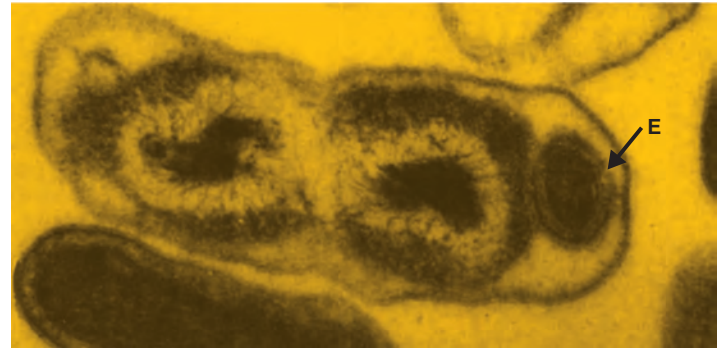
Na Austrália, na metade da década de 1930, surgiu uma pneumonia nunca antes relatada, semelhante à gripe por influenza. Na ausência de uma causa óbvia, a doença foi apontada como **febre Q** (Q de

(a) Massa de *Coxiella burnetti* crescendo em uma célula placentária. MET 2 μm

(b) Esta célula acabou de se dividir; observe o corpo tipo endosporo (E), que provavelmente é responsável pela resistência relativa do organismo. MET 0,5 μm

Figura 24.14 ***Coxiella burnetti*, o agente causador da febre Q.**

P Quais os dois métodos de transmissão da febre Q?

query, indagação), como alguém diria "febre X". O agente causador foi subsequentemente identificado como sendo a bactéria parasita obrigatória intracelular *Coxiella burnetii*, (**Figura 24.14a**). Normalmente ela é classificada com um membro das γ-proteobactérias. Juntamente com outras bactérias deste grupo (como as do gênero *Franciscella* e *Legionella*), ela possui a habilidade de se multiplicar intracelularmente. A maioria das bactérias intracelulares, como as riquétsias, não é resistente o suficiente para sobreviver à transmissão pelo ar, mas esse micro-organismo é uma exceção.

A febre Q apresenta uma variedade de sintomas clínicos, e testes sistemáticos mostram que cerca de 60% dos casos nem chegam a ser sintomáticos. Em casos de *febre Q aguda*, geralmente há a ocorrência de febre alta, cefaleias, dores musculares e tosse. O coração também é envolvido em cerca de 2% dos pacientes agudos e é responsável pelas raras fatalidades. Em casos de *febre Q crônica*, a manifestação mais conhecida é a endocardite (veja a página 641). Um período de 5 a 10 anos pode se passar entre a infecção inicial e o aparecimento de endocardite, e uma vez que esses pacientes mostram poucos sinais de doença aguda, a associação com a febre Q com frequência é perdida. A antibioticoterapia e o diagnóstico precoce têm diminuído a taxa de mortalidade da febre Q crônica para menos de 5%.

A *C. burnetii* é um parasita de vários artrópodes, especialmente os carrapatos do gado, e é transmitida entre os animais pelas picadas de carrapatos. Os animais infectados incluem gado, cabras e ovelhas, bem como animais mamíferos domésticos. A infecção em animais geralmente é subclínica. O carrapato do gado dissemina a doença entre o rebanho leiteiro, e os micróbios são disseminados nas fezes, no leite e na urina do gado infectado. Uma vez que a doença esteja estabelecida no rebanho, é mantida por transmissão em aerossol. A doença é transmitida aos seres humanos pela ingestão de leite não pasteurizado e por inalação de aerossóis de micróbios gerados em instalações de gado leiteiro, especialmente na época do parto, a partir do material placentário, que contém cerca de um bilhão de bactérias por grama de tecido.

A inalação de um único patógeno é suficiente para causar infecção, e muitos funcionários de fábricas de laticínios têm adquirido pelo menos infecções subclínicas. Os funcionários de frigoríficos, fábricas de processamento de carne e curtumes também estão sob risco. A temperatura de pasteurização do leite, que originalmente visava eliminar os bacilos da TB, foi elevada um pouco em 1956 para assegurar a eliminação de *C. burnetii*. Em 1981, um corpo semelhante a um endosporo foi descoberto, que pode ser responsável por essa resistência ao calor (**Figura 24.14b**). Esse corpo de resistência é mais semelhante ao corpo elementar da clamídia que aos endosporos típicos bacterianos.

O patógeno pode ser identificado por isolamento e crescimento em ovos embrionados de galinha ou em cultura de células. Para o teste do soro dos pacientes em laboratório, podem ser usados testes sorológicos para a localização de anticorpos específicos anti-*Coxiella*.

Uma doença encontrada no mundo inteiro, a maioria dos casos norte-americanos de febre Q ocorre nos estados do oeste. A doença é endêmica na Califórnia, no Arizona, no Oregon e em Washington. Uma vacina para pessoas que trabalham em laboratório e outras pessoas sob alto risco está disponível. A doxiciclina tem sido recomendada para o tratamento. Nas infecções crônicas, a *C. burnetti* fica resistente ao medicamento quando está em crescimento dentro dos macrófagos; a atividade bactericida pode ser restaurada pela combinação da doxiciclina com a cloroquina, um antimalárico. A cloroquina eleva o pH do fagossomo, aumentando a eficiência da doxiciclina.

Melioidose

Em 1911, uma nova doença foi relatada entre usuários de drogas em Rangoon, Burma (hoje Myanmar). O patógeno bacteriano *Burkholderia pseudomallei* é um bacilo gram-negativo formalmente adicionado ao gênero *Pseudomonas*. Esse patógeno é estreitamente relacionado a uma bactéria causadora do Mormo, uma doença de cavalos. Entretanto, a doença foi denominada **melioidose**, do grego *melis* (febre dos asnos) e *eidos* (semelhante a). Ela agora é reconhecida como uma das principais doenças infecciosas do sudoeste asiático e do norte da Austrália, onde o patógeno é amplamente distribuído nos solos úmidos. Mais comumente essa bactéria afeta pessoas com baixa

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Surto

À medida que lê este quadro, você encontrará uma série de questões que os epidemiologistas se perguntam quando tentam resolver um problema clínico. Tente responder cada questão como se fosse um epidemiologista.

1. Um homem de 64 anos procurou seu clínico com queixa de febre, mal estar e tosse. Sua vacinação estava em dia, incluindo DTaP. Sua condição piorou em alguns dias; ele tinha dificuldade de respirar e sua temperatura atingiu 40,4°C. Ele foi hospitalizado e seus pulmões apresentaram sinais de inflamação leve com uma secreção fina e aquosa. Uma coloração de Gram das bactérias isoladas do paciente é mostrada na foto.

   Quais doenças são possíveis?

2. No mesmo dia, um homem de 37 anos se apresentou na emergência hospitalar com fôlego curto, fadiga e tosse. No dia anterior ele tinha tido febre e calafrios, com temperatura corporal de 38,6°C.

   Quais testes adicionais você faria em ambos os pacientes?

3. Os pacientes tinham um título de anticorpos > 1.024 contra *Legionella pneumophila* do sorogrupo 1. O Departamento de Saúde local foi contactado, pois dois pacientes foram hospitalizados com legionelose.

   O que você deveria saber agora?

4. Uma semana antes da hospitalização, ambos os pacientes estiveram no mesmo hotel em um intervalo de um dia de estadia. Seis casos adicionais de legionelose foram identificados em outros hospitais. Um questionário de acompanhamento foi feito com os oito pacientes para os dados sobre a viagem que precedeu o adoecimento, incluindo localização, acomodação, datas e informação a respeito das fontes comuns de exposição à infecção (veja a tabela).

   Quais são as fontes aparentes de infecção?

História de viagem dos pacientes	
Idade	37 a 70 anos (média: 60)
Sexo	6 homens; 2 mulheres
Número de noites no hotel	1 a 4 (média: 3)
Pacientes com diabetes melito	4
Pacientes imunocomprometidos	1
Pacientes fumantes	5
Pacientes que tomaram banho	8
Pacientes que usaram a banheira	1
Pacientes que usaram a piscina	6

5. A legionelose epidêmica normalmente resulta da exposição de pessoas suscetíveis a um aerossol gerado por uma fonte ambiental de água contaminada com *Legionella*.

   Por que é importante identificar a fonte?

6. Uma identificação retrospectiva de casos permite que seja feito o controle. *L. pneumophila* do mesmo tipo do anticorpo monoclonal foi recuperado de tanques de estocagem de água quente, torres de resfriamento, chuveiros e válvulas nos quartos ocupados pelos pacientes e hóspedes.

   Por que outros hóspedes do hotel não ficaram doentes?

7. Durante surtos, taxas de ataque tendem a ser mais altas em grupos de risco específicos, incluindo adultos mais velhos, fumantes e pessoas imunocomprometidas.

   Quais são as recomendações para remediar o problema?

Coloração de Gram mostrando bactérias na amostra de tecido. MO 5 μm

Duchas e válvulas foram desinfectadas com cloro. O filtro da banheira foi limpo e o sistema de água potável foi hiperclorado.

Os hotéis têm sido locais comuns de ocorrência de surtos de legionelose desde que a doença foi reconhecida pela primeira vez entre hóspedes de um hotel na Filadélfia em 1976.

Fonte: Adaptado de *MMWR* 56(48): 1261-1263. 7 de dezembro de 2007.

capacidade imunológica – com frequência diabetes. Casos esporádicos são relatados na África, no Caribe, nas Américas do Sul e Central e no Oriente. Muitas espécies animais também são suscetíveis.

Do ponto de vista clínico, a melioidose é mais comumente vista como pneumonia. Mortalidade ocorre a partir da disseminação, manifestando-se como choque séptico. A taxa de mortalidade no sudoeste asiático é de cerca de 50%, e na Austrália aproxima-se de 20%. Entretanto, a doença pode aparecer como abscessos em vários tecidos do corpo, semelhante à fasciite necrosante (veja a Figura 21.8, página 591), à sepse grave e até mesmo à encefalite. A transmissão ocorre principalmente por inalação, mas vias de infecção alternativas são a inoculação por ferimentos pontuais e a ingestão. Cerca de 7% dos soldados norte-americanos que retornaram do Vietnã mostraram evidência sorológica de exposição, que foi mais alta entre pilotos de helicóptero – provavelmente por inalação. Períodos de incubação podem ser muito longos, e algumas vezes casos com início atrasado ainda poderão ocorrer nesta população. Mais recentemente, muitos casos foram relatados em sobreviventes do desastre do Tsunami no Oceano Índico em 2004.

O diagnóstico normalmente é realizado por isolamento do patógeno dos fluidos corporais. Testes sorológicos em áreas endêmicas são problemáticos, devido a uma ampla exposição a uma bactéria similar não patogênica. Um teste rápido de PCR está sob testagem clínica. O tratamento com antibióticos tem efetividade in-

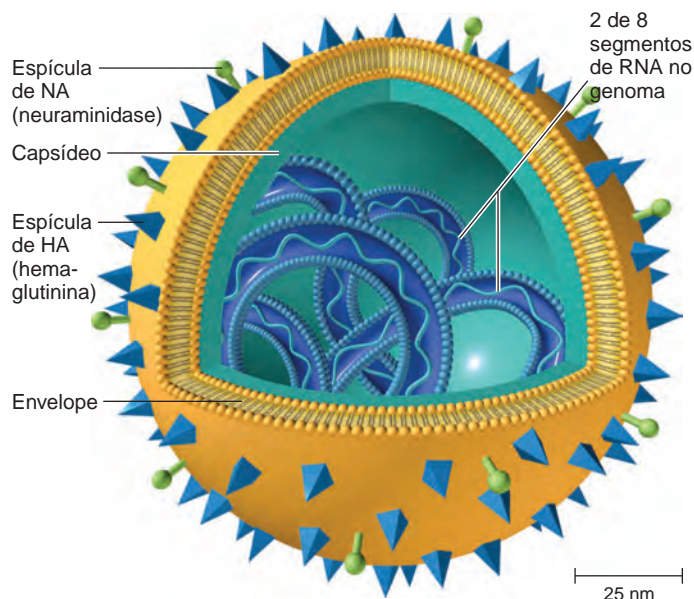



Figura 24.15 Estrutura detalhada do vírus da gripe. O vírus é composto por um revestimento proteico (capsídeo) que é recoberto por uma camada dupla lipídica (envelope) e dois tipos de espículas. O genoma é composto por oito segmentos de RNA. Morfologicamente, sob certas condições ambientais, o vírus da gripe assume uma forma filamentosa.

P Qual é a principal estrutura antigênica do vírus *Influenza*?

certa; o mais comumente utilizado é a ceftazidima, um antibiótico β-lactâmico, mas são requeridos meses de tratamento.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual grupo de patógenos bacterianos causa a doença informalmente denominada "pneumonia da caminhada"? **24-7**

✓ A bactéria causadora da melioidose em seres humanos também causa uma doença em cavalos conhecida de que modo? **24-8**

Doenças virais do trato respiratório inferior

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-9 Listar o agente causador, os sintomas, a prevenção e o tratamento preferencial da pneumonia viral, do RSV e da gripe.

Para um vírus alcançar o trato respiratório inferior e iniciar uma doença deve passar por numerosas defesas do hospedeiro designadas para aprisioná-lo e destruí-lo.

Pneumonia viral

A **pneumonia viral** pode ocorrer como uma complicação da gripe, do sarampo ou mesmo da varicela. Demonstrou-se que uma série de vírus entéricos e outros causam pneumonia viral, mas os vírus são isolados e identificados em menos de 1% das infecções pneumônicas, porque poucos laboratórios estão equipados para testar corretamente as amostras clínicas para vírus. Nos casos de pneumonia para os quais nenhuma causa é determinada, a etiologia viral com frequência é presumida se a pneumonia por micoplasma foi excluída.

Vírus sincicial respiratório (RSV)

O **vírus sincicial respiratório** (**RSV**, de *respiratory syncytial virus*) provavelmente é a causa mais comum de doença respiratória viral em lactentes. Ocorrem em torno de 4.500 mortes por RSV a cada ano nos Estados Unidos, especialmente em lactentes de 2 a 6 meses de idade. O vírus também pode causar um tipo de pneumonia potencialmente letal em pessoas mais velhas. As epidemias ocorrem durante o inverno e no começo da primavera. Quase todas as crianças são infectadas aos dois anos, das quais em torno de 1% requer hospitalização. Mencionamos anteriormente que o RSV algumas vezes está envolvido em casos de otite média. O nome do vírus é derivado de sua característica de causar a fusão celular (formação de *sincício*, Figura 15.7b, página 442) quando cultivado em cultura de células. Os sintomas são tosse e sibilos que duram mais de uma semana. Há a ocorrência de febre somente quando existem complicações bacterianas. Diversos testes sorológicos rápidos estão disponíveis atualmente, usando amostras de secreções respiratórias para detectar tanto o vírus quanto seus anticorpos.

A imunidade naturalmente adquirida é muito fraca. Uma imunoglobulina foi aprovada para proteger lactentes com problemas pulmonares de alto risco. Vacinas protetoras estão sendo testadas clinicamente. Para a quimioterapia em situações de risco à vida, quando o custo é justificado, a gravidade muitas vezes pode ser reduzida com a droga antiviral ribavirina administrada por aerossol. O mais recente tratamento aprovado, normalmente reservado aos pacientes de alto risco, é o anticorpo humanizado palivizumab (Synagis).

Influenza (gripe)

Os países desenvolvidos provavelmente estão mais preocupados com a **gripe** (**influenza**) do que com qualquer outra doença, exceto pelo resfriado comum. A gripe se caracteriza por calafrios, febre, cefaleia e dores musculares gerais. A recuperação normalmente ocorre em poucos dias, e os sintomas gripais surgem à medida que a febre cede. Entretanto estima-se que 30.000 a 50.000 norte-americanos morram anualmente de gripe, mesmo em anos não epidêmicos. A diarreia não é um sintoma normal da doença, e o desconforto intestinal atribuído à "gripe estomacal" provavelmente tem alguma outra causa.

Vírus *Influenza*

Os vírus do gênero *Influenza* consistem em oito segmentos distintos de RNA, de diferentes comprimentos, envolvidos por uma camada interna de proteína e uma bicamada lipídica externa (Figura 13.3b, página 372, **Figura 24.15**). Embebidas na camada bilipídica, há numerosas projeções que caracterizam o vírus. Existem dois tipos de projeções: *espículas de hemaglutinina* (*HA*) e *espículas de neuraminidase* (*NA*). Esta reação é importante nos testes sorológicos, como os de inibição de hemaglutinação frequentemente utilizados para identificar o vírus influenza e alguns outros vírus.

As espículas de HA, que existem em um número de cerca de 500 em cada partícula viral, permitem ao vírus reconhecer e se ligar às células do hospedeiro antes de infectá-las. Anticorpos contra o vírus *Influenza* são dirigidos principalmente contra essas espículas.

O termo *hemaglutinina* refere-se à aglutinação de células vermelhas do sangue (hemaglutinação) que ocorre quando os vírus são misturados à hemácias.

As espículas NA, das quais existem cerca de 100 por partícula viral, diferem das espículas HA na forma e na função. Elas ajudam enzimaticamente o vírus a se separar da célula infectada à medida que ele sai após a multiplicação intracelular. As espículas NA também estimulam a formação de anticorpos, mas esses são menos importantes na resistência do corpo à doença que aqueles produzidos em resposta às espículas HA.

As amostras virais são identificadas pela variação nos antígenos HA e NA. As diferentes formas de antígeno recebem números – por exemplo, H1, H2, H3, N1 e N2. Existem 16 subtipos de HA e nove subtipos de NA. Cada mudança de número representa uma alteração substancial na composição proteica da espícula. Essas alterações são denominadas **rearranjos genéticos** (*antigenic shifts*) e são importantes o suficiente para evadir da maioria da imunidade desenvolvida na população humana (veja o quadro no Capítulo 13, página 370). Essa habilidade é responsável por surtos, incluindo as pandemias de 1918, 1957 e 1968, que estão resumidas na **Tabela 24.1**. Incidentalmente os vírus *Influenza* não foram isolados antes de 1933, e a constituição antigênica dos vírus responsáveis pelos surtos antes dessa época dependia da análise de anticorpos retirados de pessoas que haviam sido infectadas.

Os rearranjos genéticos provavelmente são causados por uma grande recombinação genética. Uma vez que o RNA viral do *Influenza* ocorre em oito segmentos, a recombinação é provável em infecções causadas por mais de uma amostra viral. As espículas de HA dos vírus *Influenza* ligam-se aos resíduos de ácido siálico encontrados na superfície das células epiteliais. O ácido siálico da maioria das aves é diferente do encontrado nos seres humanos. Esta característica, então, em geral diferencia os vírus Influenza presentes em amostras aviárias e de mamíferos. Suínos e muitas aves silvestres podem ser infectados com ambas as amostras. Os suínos são, desse modo, bons "recipientes de mistura", nos quais a recombinação e *rearranjos* podem ocorrer (como os símbolos que se misturam em uma máquina caça-níqueis). Comunidades asiáticas nas quais seres humanos, aves domésticas e suínos convivem diretamente são os locais onde os rearranjos ocorrem com maior facilidade. Patos silvestres e outras aves migratórias podem ser infectados com ambas as amostras e tornam-se portadores assintomáticos que disseminam o vírus em grandes regiões geográficas.

No sudoeste asiático, a avicultura está agora sendo realizada em aviários de grande escala, que se tornaram um território para a geração de surtos de influenza aviária, como H5N1, que surgiu pela primeira vez na China em 1996. A transmissão deste vírus de aves para seres humanos tem sido muito limitada. A preocupação é que mutações possam modificar os vírus *Influenza* aviários em amostras que permitam uma transmissão eficiente entre as pessoas, resultando em uma pandemia de influenza letal.

Epidemiologia da gripe

Entre os episódios de grandes rearranjos genéticos, ocorrem pequenas variações anuais na constituição antigênica dos vírus, denominadas **mutações** (*antigenic drift*). O vírus ainda pode ser denominado H3N2, por exemplo, mas amostras virais surgem refletindo pequenas variações antigênicas dentro do mesmo grupo antigênico. Essas amostras algumas vezes recebem nomes relacionados à localidade em que foram identificadas pela primeira vez. Elas normalmente refletem uma alteração de um único aminoácido na composição proteica da espícula HA ou NA. Essa pequena mutação em uma etapa provavelmente seja uma resposta à pressão seletiva dos anticorpos (geralmente IgA nas membranas mucosas) que neutraliza todos os vírus, exceto os novos mutantes. Essas mutações podem ser esperadas uma vez em cada milhão de multiplicações do vírus. Altas taxas de mutação são uma característica dos vírus RNA, que não possuem a mesma capacidade de correção (*proofreading*) dos vírus DNA.

Tabela 24.1 Vírus *Influenza* humanos*

Tipo	Subtipo antigênico	Ano	Gravidade da doença
A	H3N2 (a primeira pandemia "moderna"; originária do sul da China)	1889	Moderada
	H1N1 (Espanhola)	1918	Grave
	H2N2 (Asiática)	1957	Grave
	H3N2 (Hong Kong)	1968	Moderada
	H1N1 (Russa)†	1977	Baixa
B	Nenhum	1940	Moderada
C	Nenhum	1947	Muito leve

* Convencionalmente, H1, H2 e H3 são amostras que infectam seres humanos; H4, H5, H6 e H7 infectam principalmente animais, em especial suínos e aves (Influenza aviária, amostras H5N1 e H7N7, causa mortalidade em seres humanos).

† Provavelmente tenha escapado de laboratório. Neste período, pessoas com mais de 20 anos eram imunes a amostras virais similares às que circulavam nos anos de 1950 e início do século.

Fonte: Adaptada de C. Mims, J. Playfair, I. Roitt, D. Wakelin e R. Williams, *Medical Microbiology*, 2ª edição. Londres: Mosby International, 1998.

O resultado normal das mutações do RNA é que uma vacina efetiva contra H3, por exemplo, será menos efetiva contra os isolados de H3 que estiverem circulando 10 anos após o evento; mutações suficientes terão ocorrido durante esse período para que o vírus possa evadir-se de boa parte dos anticorpos originalmente estimulados pela amostra inicial.

Os vírus *Influenza* também são classificados em grupos, de acordo com os antígenos de seus capsídeos. Esses grupos, que constituem gêneros, são A, B e C (raramente). Os vírus tipo A são responsáveis pelas grandes pandemias. Os vírus tipo B também circulam e sofrem mutações, mas normalmente são responsáveis por infecções mais limitadas geograficamente e mais brandas.

Quase todos os anos, epidemias de gripe se disseminam em grandes populações. A doença é tão facilmente transmissível que as epidemias são rapidamente propagadas entre as populações suscetíveis às novas variantes virais. A taxa de mortalidade da doença não é alta, normalmente menor que 1%, e as mortes ocorrem principalmente entre pessoas muito novas ou muito idosas. Contudo,

tantas pessoas são infectadas em uma grande epidemia que o número total de mortes frequentemente é alto.

Vacinas contra a gripe

Até o momento, não tem sido possível fazer uma vacina para a gripe que forneça imunidade prolongada para a população em geral. Embora não seja difícil fazer uma vacina para uma amostra antigênica específica de um vírus, cada nova linhagem circulante deve ser identificada a tempo, geralmente em fevereiro, para o desenvolvimento e a distribuição de uma nova vacina funcional, para períodos posteriores no mesmo ano. Amostras de vírus da gripe são coletadas em cerca de 100 centros em todo o mundo e posteriormente analisadas em laboratórios centrais. Essas informações são então utilizadas para decidir a composição das vacinas que serão oferecidas na próxima temporada de gripe. As vacinas frequentemente são *multivalentes* – isto é, dirigidas a vários protótipos em circulação no momento. Atualmente, os vírus da gripe para a fabricação de vacinas são cultivados em ovos embrionados. As vacinas costumam ser 70 a 90% efetivas, mas a duração da proteção provavelmente não é maior que três anos para aquela linhagem.

Uma vacina que pode ser administrada como spray nasal foi recentemente introduzida e pode ser utilizada em crianças de um a cinco anos (esta vacina pode ainda ser estendida a outros grupos etários). Pesquisas dirigidas ao desenvolvimento de vacinas contra *Influenza* que sejam mais efetivas e de produção mais rápida e fácil são prioridade. O principal problema é que os métodos que requerem a produção em ovos embrionados necessitam de trabalho intenso de laboratório, sendo pouco eficientes. Estes métodos também requerem um tempo extenso e inaceitável de resposta ao aparecimento de novas amostras. Além disso, os vírus se multiplicam pouco em ovos embrionados. Uma tecnologia teoricamente promissora para superar este problema é o uso da *genética reversa*. O genoma viral de RNA é convertido em DNA e, então, manipulado para remover os genes causadores da patogenicidade. O DNA é convertido novamente em RNA para a produção da vacina. Estes procedimentos rapidamente resultam em uma versão não patogênica do vírus, que pode ser expandido em cultura celular ou de ovos embrionados. Isso minimizaria ainda as chances de contaminantes que ofereçam risco.

Pandemia de 1918-1919

Em qualquer discussão sobre a gripe, a grande pandemia de 1918-1919 deve ser mencionada.* Em todo o mundo, mais de 20 milhões de pessoas morreram, com uma estimativa de 675.000 mortes nos Estados Unidos. Ninguém sabe por que ela foi tão surpreendentemente letal. Hoje, os muito jovens e muito idosos são as principais vítimas, mas, entre 1918 e 1919, adultos jovens tiveram a mais alta taxa de mortalidade, com frequência morrendo dentro de poucas horas, provavelmente de uma "tempestade de citocinas". A infecção geralmente é restrita ao trato respiratório superior, mas alguma alteração na virulência permitiu ao vírus invadir os pulmões e causar hemorragia fatal.

Evidências sugerem ainda que o vírus foi capaz de infectar células de muitos órgãos do corpo. Em 2005, a análise de material preservado proveniente dos pulmões de um soldado norte-americano morto pela gripe e do corpo de uma vítima enterrada em uma área permanentemente congelada do solo do Alasca levou ao sequenciamento genético completo do vírus de 1918. O processo de reversão genética foi então utilizado para recriar o vírus e expandi-lo em embriões de galinha e camundongos. A conclusão é que a pandemia foi causada por um vírus aviário H1N1 com 10 mudanças de aminoácidos. Ao contrário, as pandemias de 1957 e 1968 foram causadas por vírus humanos que obtiveram uma ou duas proteínas de superfície dos vírus aviários por recombinação. Entretanto, a porção adaptada do vírus tornou-o moderado o suficiente para evitar que tivesse a mesma letalidade do vírus aviário original da pandemia de 1918.

Complicações bacterianas frequentemente também acompanhavam a infecção e, no período pré-antibiótico, muitas vezes eram fatais. A amostra viral de 1918 aparentemente se tornou endêmica na população suína dos Estados Unidos e pode ter se originado ali. Ocasionalmente, a gripe ainda se dissemina entre os seres humanos por meio deste reservatório, mas não se propaga como a doença virulenta de 1918.

Diagnóstico da gripe

A gripe é difícil de diagnosticar corretamente a partir de sinais clínicos, que são semelhantes aos da maioria das doenças respiratórias. Entretanto, agora existem muitas técnicas comerciais disponíveis que podem diagnosticar *Influenza* A e B dentro de 20 minutos a partir de uma amostra coletada em consultório clínico (de lavado ou raspado nasal). Estes testes rápidos normalmente apresentam 70 e 90% de sensibilidade e especificidade, respectivamente. Um laboratório central com equipamentos sofisticados é requerido para a identificação das amostras virais.

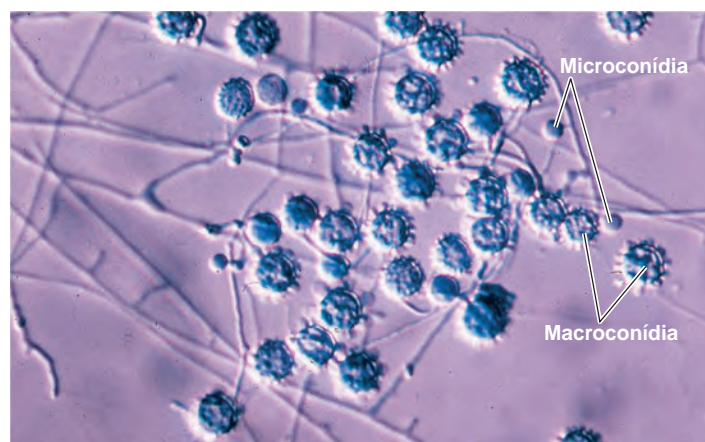
Tratamento da gripe

As drogas antivirais amantadina e rimantadina reduzem significativamente os sintomas de *Influenza* A, se administradas prontamente. Mais recentemente, duas drogas para o tratamento da gripe foram introduzidas. Elas são inibidores de neuraminidase, que o vírus usa para se desligar da célula do hospedeiro após replicação e início do brotamento. Essas drogas são o zanamivir (Relenza), que é inalado, e o oseltamivir (Tamiflu), que é administrado oralmente. Se forem tomadas em um período de 30 horas após o início da gripe, estas drogas retardam a replicação viral. Esta ação leva o sistema imune a ser mais efetivo, diminuindo a duração dos sintomas e a taxa de mortalidade. As complicações bacterianas da gripe podem ser tratadas com antibióticos.

---

* Sempre haverá incerteza com relação à origem desta que é umas das pandemias mais famosas. Os relatos mais confiáveis colocam os primeiros casos bem documentados acontecendo entre soldados norte-americanos em Camp Funston, Kansas, em março de 1918. A onda inicial de gripe foi causada por uma doença relativamente branda que se espalhou rapidamente entre as tropas concentradas. A doença atingiu a França quando os soldados foram enviados para lá. Na França, o vírus sofreu uma mutação que o tornou letal, incapacitando seriamente tropas de ambos os lados do fronte. Censores militares esconderam os fatos, e as primeiras descrições jornalísticas foram publicadas quando o surto atingiu a população da Espanha, que era neutra durante o conflito, daí o nome da pandemia: **gripe espanhola**. A segunda onda de gripe, com alta taxa de mortalidade, rapidamente se espalhou pelo mundo e entrou novamente nos Estados Unidos no outono e no inverno de 1918.

(a) Forma leveduriforme típica do crescimento em tecido a 37ºC. Observe que uma célula próxima ao centro está brotando.

MO 5 μm

(b) As macroconídias são especialmente úteis para o diagnóstico. As microconídas brotam da hifa e são as formas infecciosas. A 37ºC nos tecidos, o organismo converte-se a uma fase de levedura, composta de leveduras ovais em brotamento.

MO 20 μm

Figura 24.16 ***Histoplasma capsulatum*, um fungo dimórfico que causa a histoplasmose.**

P O que significa o termo *dimórfico*?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A recombinação dos segmentos de RNA do vírus *Influenza* causa mutações ou rearranjos? **24-9**

Doenças fúngicas do trato respiratório inferior

OBJETIVO DO APRENDIZADO

24-10 Listar o agente causador, o modo de transmissão, o tratamento preferencial e os testes de identificação laboratorial para quatro doenças fúngicas do sistema respiratório.

Os fungos frequentemente produzem esporos que são disseminados pelo ar. Assim, não é surpresa que várias doenças fúngicas sérias afetem o trato respiratório inferior. A incidência de infecções fúngicas tem aumentado nos últimos anos. Os fungos oportunistas são capazes de crescer em pacientes imunossuprimidos, e a Aids, as drogas para transplantes e as drogas anticâncer criaram ainda mais pessoas imunossuprimidas do que havia anteriormente.

Histoplasmose

A **histoplasmose** lembra superficialmente a tuberculose. De fato, foi reconhecida pela primeira vez como uma doença disseminada nos Estados Unidos quando as pesquisas com raios X mostraram lesões pulmonares em muitas pessoas com resultado negativo no teste de tuberculina. Embora os pulmões tenham mais probabilidade de serem infectados inicialmente, os patógenos podem se disseminar no sangue e na linfa, causando lesões em quase todos os órgãos do corpo.

Os sintomas normalmente são mal definidos e principalmente subclínicos, e a doença pode passar por uma infecção respiratória leve. Em alguns casos, talvez em menos de 0,1%, a histoplasmose progride e se torna uma doença grave e generalizada. Isso ocorre com um inóculo surpreendentemente concentrado ou após a reativação, quando o sistema imune da pessoa infectada está comprometido.

O organismo causador, *Histoplasma capsulatum*, é um fungo dimórfico; isto é, ele tem uma morfologia de levedura no crescimento nos tecidos (**Figura 24.16a**) e, no solo ou em meio artificial, forma um micélio filamentoso transportando conídios (esporos) reprodutivos (**Figura 24.16b**). No corpo, a forma leveduriforme é encontrada intracelularmente em macrófagos, onde sobrevive e se multiplica.

Embora a histoplasmose seja amplamente disseminada no mundo, tem uma distribuição geográfica limitada nos Estados Unidos (**Figura 24.17**). Em geral, a doença é encontrada nos estados adjacentes aos rios Mississipi e Ohio. Mais de 75% da população em alguns desses estados possuem anticorpos contra a infecção. Em outros estados – Maine, por exemplo – um teste positivo é um evento raro. Aproximadamente 50 óbitos são relatados nos Estados Unidos a cada ano devido à histoplasmose.

Os seres humanos adquirem a doença pelos conídios veiculados pelo ar, produzidos sob condições de umidade e níveis de pH adequados. Essas condições ocorrem especialmente onde fezes de aves e morcegos se acumulam. As aves em si, devido a sua alta temperatura corporal, não carreiam a doença, mas suas fezes fornecem nutrientes, particularmente uma fonte de nitrogênio, para o fungo. Os morcegos, que possuem uma temperatura corporal menor que as aves, carreiam o fungo, disseminam-no em suas fezes e provavelmente infectam novos solos.

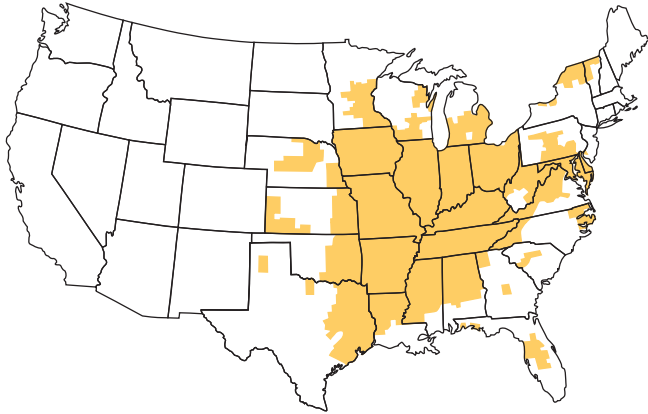



Figura 24.17 Distribuição da histoplasmose. A área em dourado indica a distribuição geográfica nos Estados Unidos. *Fonte:* CDC.

P Compare com a distribuição da doença mostrada no mapa da Figura 24.19; o que pode-se determinar sobre os requerimentos de umidade no solo para os dois fungos envolvidos?

Os sinais clínicos e a história, os testes sorológicos, as sondas de DNA e, principalmente, o isolamento do patógeno ou sua identificação em amostras de tecido são necessários para o diagnóstico correto. Atualmente, a quimioterapia mais efetiva é a anfotericina B ou o itraconazol.

Coccidioidomicose

Outra doença pulmonar fúngica, também bastante restrita geograficamente, é a **coccidioidomicose**. O agente causador é o *Coccidioides immitis*, um fungo dimórfico. Os esporos são encontrados em solos secos e alcalinos do sudoeste norte-americano e em solos similares da América do Sul e do norte do México. Devido a sua frequente ocorrência no Vale San Joaquin na Califórnia, a doença algumas vezes é referida como *febre do Vale* ou *febre San Joaquin*. Em tecidos, o organismo forma um corpo de paredes espessas, cheio de endosporos, denominado *esférula* (**Figura 24.18**). No solo, forma filamentos que se reproduzem pela formação de *artrosporos*. O vento leva os artrosporos para transmitir a infecção. Os artrosporos frequentemente são tão abundantes que simplesmente dirigir por uma área endêmica pode resultar em infecção, em especial durante uma tempestade de poeira. Estima-se que 100 mil infecções ocorram a cada ano.

A maioria das infecções não é aparente, e quase todos os pacientes se recuperam em poucas semanas, mesmo sem tratamento. Os sintomas da coccidioidomicose incluem dor torácica e, talvez, febre, tosse e perda de peso. Em menos de 1% dos casos, uma doença progressiva semelhante à tuberculose se dissemina pelo corpo. Uma proporção substancial de adultos que residem há muito tempo em áreas onde a doença é endêmica apresenta evidências de infecção prévia com *C. immitis* pelo teste cutâneo.

A incidência de coccidioidomicose tem aumentado recentemente na Califórnia e no Arizona (**Figura 24.19**). Os fatores que contribuem incluem um número crescente de residentes mais idosos, uma prevalência aumentada de HIV/Aids e uma seca severa na Califórnia que facilitou a transmissão pela poeira. Cerca de 50 a 100 óbitos ocorrem anualmente por esta doença nos Estados Unidos.

O diagnóstico é realizado de modo mais confiável pela identificação das esférulas em tecidos ou fluidos. O organismo pode ser

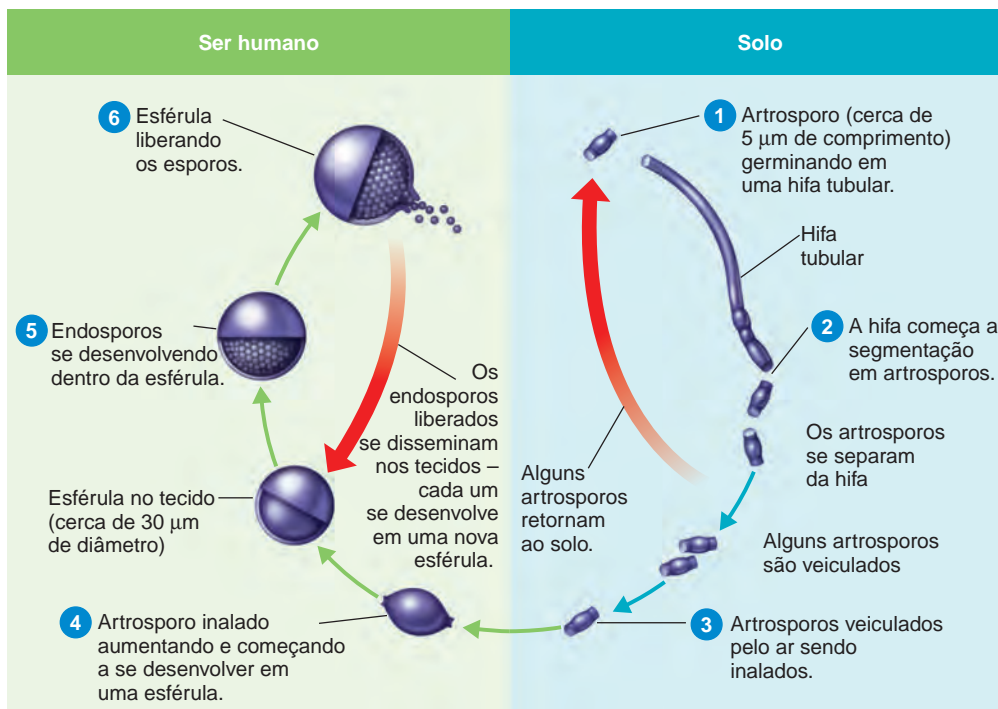



Figura 24.18 O ciclo de vida do *Coccidioides immitis*, a causa da coccidioidomicose.

P Qual é o habitat natural do *Coccidioides*?

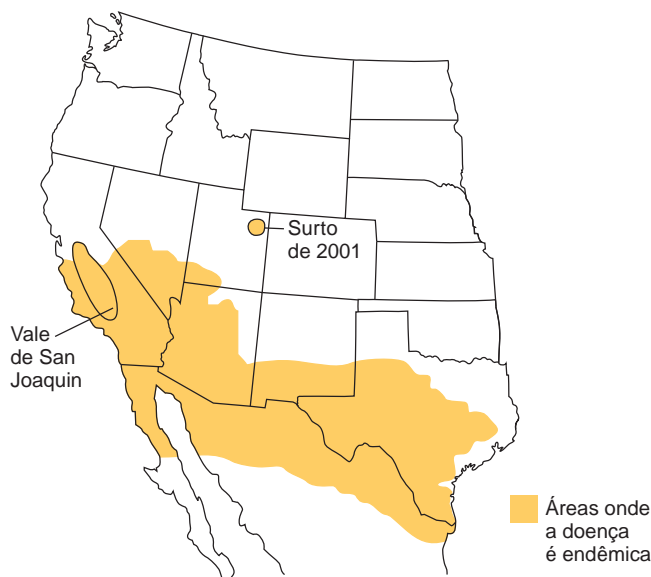



Figura 24.19 **A área endêmica para coccidioidomicose nos Estados Unidos.** A área demarcada na Califórnia é o Vale San Joaquin. Devido à alta incidência da doença na região, ela algumas vezes é denominada febre do Vale. A pequena área no mapa na região nordeste de Utah indica um surto em 2001 em que dez arqueólogos que trabalhavam em escavações no *Dinosaur National Monument* foram infectados.

Fonte: CDC, 2004.

P **Por que a incidência de coccidioidomicose aumenta após distúrbios ecológicos como terremotos e construções?**

cultivado a partir de fluidos ou lesões, mas deve-se ter cautela com o manuseio em laboratório, devido à possibilidade de aerossóis infecciosos. Vários testes sorológicos e sondas de DNA estão disponíveis para a identificação dos isolados. Um teste cutâneo semelhante ao da tuberculina é usado na triagem.

A anfotericina B tem sido usada para tratar os casos mais graves. Contudo, drogas imidazólicas menos tóxicas, como o cetoconazol e o itraconazol, são alternativas úteis.

Pneumonia por *Pneumocystis*

A **pneumonia por *Pneumocystis*** é causada pelo *Pneumocystis jirovecii*, anteriormente denominado *P. carinii* (**Figura 24.20**). A posição taxonômica desse micróbio tem sido incerta desde sua descoberta em 1909, quando se acreditava que ele seria um estágio do desenvolvimento de um tripanossomo. Desde aquela época, não houve concordância sobre ele ser um protozoário ou um fungo. Ele possui algumas características de ambos os grupos. A análise recente do RNA e algumas outras características estruturais indicam que ele está diretamente relacionado a certas leveduras e geralmente é relatado como um fungo.

O patógeno é encontrado nos pulmões de pessoas saudáveis; a população em geral tem uma alta incidência da infecção, que com frequência inicia aos dois anos de idade. Adultos imunocompetentes apresentam poucos ou nenhum sintoma, mas lactentes recém-infectados ocasionalmente apresentam sintomas de uma infecção pulmonar. Pessoas com a imunidade comprometida são as mais suscetíveis à pneumonia por *Pneumocystis* sintomática. Essa parcela da população tem se expandido bastante nas últimas décadas. Por exemplo, antes da epidemia de Aids, a pneumonia por *Pneumocystis* era uma doença incomum; talvez 100 casos ocorressem a cada ano. Em 1993, ela já havia se tornado um dos principais indicadores de Aids, com mais de 20 mil casos relatados por ano. Presumivelmente, a perda da defesa imunológica eficaz permitiu a ativação de infecções latentes. Outros grupos que são bastante suscetíveis a essa doença são pessoas, cuja imunidade foi suprimida por causa do câncer ou que estão recebendo drogas imunossupressoras para minimizar a rejeição de tecidos transplantados.

No pulmão humano, os micróbios são encontrados principalmente no revestimento dos alvéolos. O diagnóstico em geral é feito a partir de amostras de escarro em que os cistos são detectados. Lá, eles formam um cisto de paredes espessas em que os corpos esféricos intracísticos se dividem sucessivamente como parte de um ciclo sexuado. O cisto maduro contém oito desses corpos (veja a Figura 24.20). No final, o cisto se rompe e libera os corpos, e cada um se desenvolve em um trofozoíto. As células trofozoíticas podem se reproduzir assexuadamente por fissão ou brotamento, mas também podem entrar no estágio sexual encistado.

A droga de escolha para o tratamento atualmente é o trimetoprim-sulfametoxazol, mas existem diversas alternativas.

Blastomicose (blastomicose norte-americana)

A **blastomicose** geralmente é denominada **blastomicose norte-americana**, para diferenciá-la da blastomicose sul-americana, que é similar. Ela é causada pelo fungo *Blastomyces dermatitidis*, um fungo dimórfico encontrado mais frequentemente no Vale do Mississipi, onde provavelmente se desenvolve no solo. Cerca de 30 a 60 mortes são relatadas a cada ano, embora a maioria das infecções seja assintomática.

A infecção começa nos pulmões e pode se disseminar rapidamente. Ulcerações cutâneas comumente surgem, e existe uma extensa formação de abscessos e destruição tecidual. O patógeno pode ser isolado do pus e de biópsias. Anfotericina B ou itraconazol normalmente é um tratamento efetivo.

Outros fungos envolvidos em doenças respiratórias

Muitos outros fungos oportunistas podem causar doença respiratória, especialmente em hospedeiros imunossuprimidos ou quando existe exposição a números massivos de esporos. A **aspergilose** é um exemplo importante. Ela é transmitida por via aérea pelos esporos de *Aspergillus fumigatus* e outras espécies de *Aspergillus*, que são amplamente disseminadas na vegetação em decomposição. Monturos de compostagem são sítios ideais para o crescimento, e os fazendeiros e jardineiros são mais frequentemente expostos a quantidades infecciosas destes esporos.

Infecções pulmonares semelhantes algumas vezes resultam da exposição de indivíduos aos esporos de bolores, como *Rhizopus* e

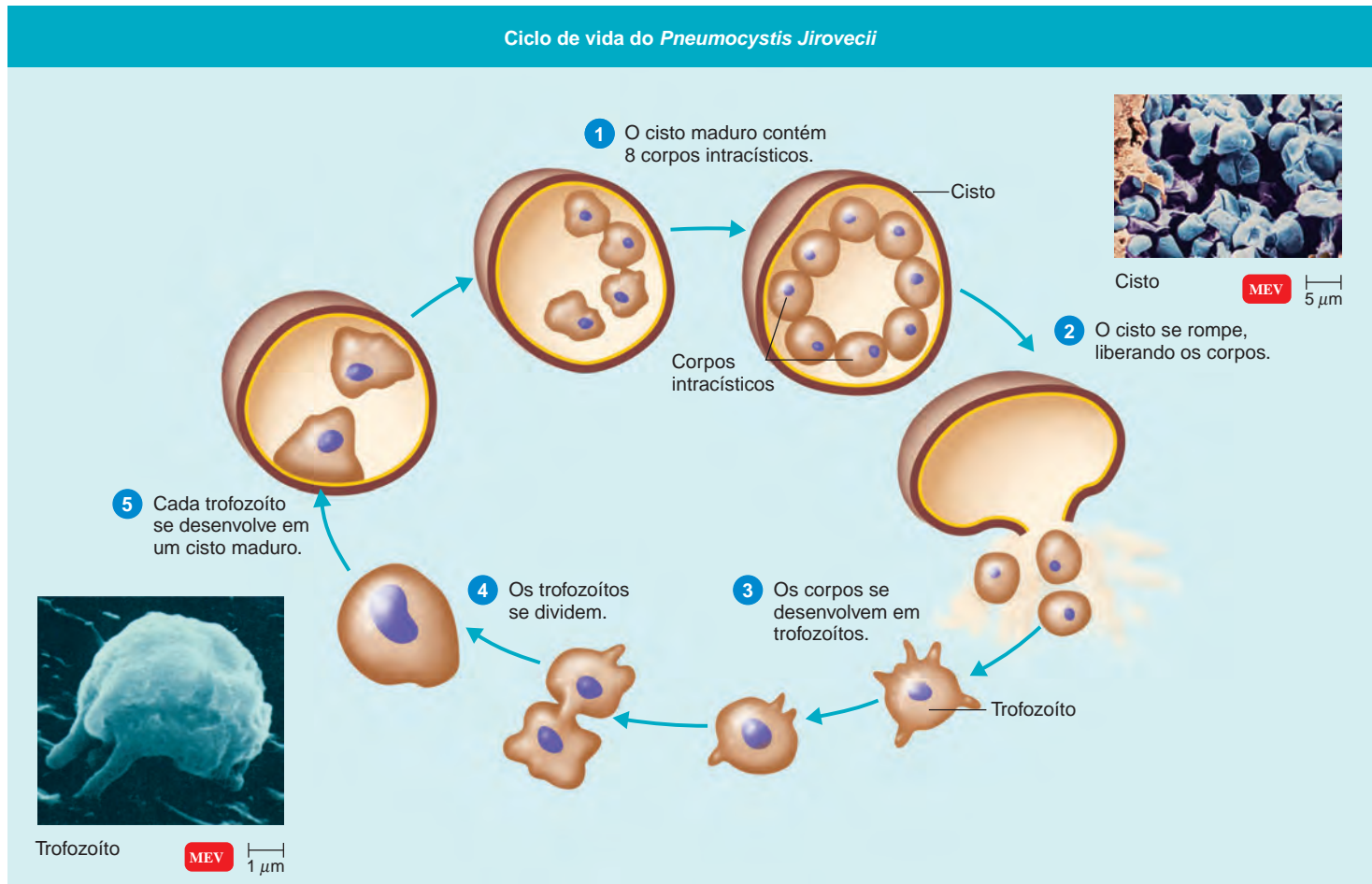



Figura 24.20 **O ciclo de vida do *Pneumocystis jirovecii*, causador da pneumonia por *Pneumocystis*.** Classificado há bastante tempo como um protozoário, o organismo agora é considerado um fungo, mas apresenta características de ambos os grupos.

P Qual a importância da classificação correta desse organismo?

Mucor. Essas doenças podem ser muito perigosas, particularmente as infecções invasivas da aspergilose pulmonar. Os fatores predisponentes incluem um sistema imune debilitado, câncer e diabetes. Como na maioria das infecções fúngicas sistêmicas, existe somente um arsenal limitado de agentes antifúngicos disponíveis; a anfotericina B tem se mostrado a droga mais útil.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ As fezes de pássaros pretos e morcegos permitem o crescimento de *Histoplasma capsulatum*; qual dos dois reservatórios animais normalmente é infectado por este fungo? **24-10**

* * *

O tópico Doenças em foco 24.3 resume as doenças microbianas respiratórias que afetam o trato respiratório inferior, discutidas neste capítulo.

DOENÇAS EM FOCO 24.3

Doenças microbianas do trato respiratório inferior

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que se encaixem no painel de informações derivado do exame do paciente. Por exemplo, três semanas após trabalhar na demolição de um edifício abandonado em Kentucky, um trabalhador foi hospitalizado com doença respiratória aguda. No momento da demolição, uma colônia de morcegos habitava o edifício. Um exame de raios X revelou uma massa no pulmão. Um teste derivado de proteína purificada foi negativo; um exame citológico para câncer também foi negativo. A massa foi cirurgicamente removida. Ao exame microscópico, a massa revelou células de levedura ovoides. Use a tabela para identificar as infecções que poderiam causar esses sintomas.

Cultura com crescimento micelial a partir da massa pulmonar do paciente.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório	Diagnóstico	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS					
Pneumonia bacteriana (Veja Doenças em Foco 24.2, página 687)					
Coqueluche	*Bordetella pertussis*	Espasmos de tosse intensa para limpar o muco	Seres humanos	Cultura bacteriana	Eritromicina Prevenção: vacina DTaP/DTP-Hib
Tuberculose	*Mycobacterium tuberculosis* *Mycobacterium bovis*	Tosse, sangue no muco	Seres humanos, bovinos; pode ser transmitido por leite não pasteurizado	Raios X; presença de bacilos álcool-ácido resistentes no escarro; testes para IFN-γ; cultura bacteriana	Drogas múltiplas antimicobactérias Prevenção: leite pasteurizado; vacina BCG
Melioidose	*Burkholderia pseudomallei*	Pneumonia, ou como abscesso no tecido e sepse grave	Solo úmido	Cultura bacteriana	Ceftazidima
DOENÇAS VIRAIS					
Doença causada pelo vírus sincicial respiratório	Vírus sincicial respiratório	Pneumonia em lactentes	Seres humanos	Testes sorológicos	Palivizumab (se houver risco à vida)
Influenza	Vírus *Influenza*; muitos sorotipos	Calafrios, febre, dor de cabeça e dores musculares	Seres humanos, suínos, aves	Testes sorológicos EIA	Amantadina, fostato de oseltamivir (Tamiflu)
DOENÇAS FÚNGICAS					
Histoplasmose	*Histoplasma capsulatum*	Semelhante à tuberculose	Solo; disseminado nos vales dos rios Ohio e Mississipi	Testes sorológicos	Anfotericina B
Coccidioidomicose	*Coccidioides immitis*	Febre, tosse e perda de peso	Solos desérticos do sudoeste norte-americano	Testes sorológicos	Anfotericina B
Pneumonia por *Pneumocystis*	*Pneumocystis jirovecii*	Pneumonia	Desconhecido; possivelmente seres humanos e solos	Microscopia	Trimetoprim-sulfametoxazol
Blastomicose	*Blastomyces dermatitidis*	Abscessos; extenso dano tecidual	Solos na área do vale do Mississipi	Isolamento do patógeno	Anfotericina B

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 674)

1. As infecções do trato respiratório superior são o tipo mais comum de infecção.
2. Os patógenos que penetram no trato respiratório superior podem infectar outras partes do corpo.

Estrutura e função do sistema respiratório (p. 675)

1. O trato respiratório superior consiste em nariz, faringe e estruturas associadas, como ouvido médio e tuba auditiva.
2. As vibrissas do nariz filtram as partículas maiores do ar que entram no trato respiratório.
3. As células ciliadas da membrana mucosa do nariz e da garganta bloqueiam partículas aéreas e as removem do corpo.
4. Tecido linfoide, tonsilas e adenoides fornecem imunidade a certas infecções.
5. O trato respiratório inferior consiste em laringe, traqueia, tubos bronquiais e alvéolos.
6. O elevador ciliar do trato respiratório inferior ajuda a impedir que os micro-organismos alcancem os pulmões.
7. Os micróbios nos pulmões podem ser fagocitados pelos macrófagos alveolares.
8. O muco respiratório contém anticorpos IgA.

Microbiota normal do sistema respiratório (p. 675, 676)

1. A microbiota normal da cavidade nasal e da garganta pode incluir micro-organismos patogênicos.
2. O trato respiratório inferior normalmente é estéril devido à ação do elevador ciliar.

DOENÇAS MICROBIANAS DO TRATO RESPIRATÓRIO SUPERIOR (p. 677-680)

1. Áreas específicas do trato respiratório superior podem se tornar infectadas, produzindo faringite, laringite, tonsilite, sinusite e epiglotite.
2. Essas infecções podem ser causadas por várias bactérias e vírus, frequentemente em combinação.
3. A maioria das infecções respiratórias é autolimitada.
4. *H. influenzae* tipo b pode causar epiglotite.

Doenças bacterianas do trato respiratório superior (p. 677-680)

Faringite estreptocócica (p. 677)

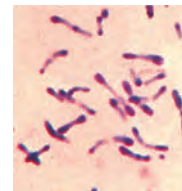
1. Essa infecção é causada pelos estreptococos β-hemolíticos do grupo A, o grupo que consiste em *Streptococcus pyogenes*.
2. Os sintomas dessa infecção são inflamação das membranas mucosas e febre; tonsilite e otite média também podem ocorrer.
3. O diagnóstico rápido é feito por testes imunoenzimáticos.
4. A imunidade a infecções estreptocócicas é tipo-específica.

Febre escarlate/escarlatina (p. 677)

5. Faringite estreptocócica, causada por um tipo específico de *S. pyogenes* produtor de toxina eritrogênica, resulta em febre escarlate.
6. *S. pyogenes* produz toxina eritrogênica quando infectado por um fago lisogênico.
7. Os sintomas incluem uma alergia avermelhada, febre alta e língua vermelha e aumentada.

Difteria (p. 677-679)

8. A difteria é causada por *Corynebacterium diphtheriae*, produtor de exotoxina.
9. A exotoxina é produzida quando as bactérias sofrem infecção por um fago lisogênico.
10. Uma membrana contendo fibrina e células humanas e bacterianas mortas se forma na garganta e pode bloquear a passagem de ar.

11. A exotoxina inibe a síntese proteica, podendo resultar em dano ao coração, aos rins ou aos nervos.
12. O diagnóstico laboratorial tem como base o isolamento da bactéria e o crescimento aparente em diferentes meios de cultura.
13. A imunização de rotina nos Estados Unidos inclui o toxoide diftérico na vacina DTaP.
14. Uma ulceração de cura lenta é característica da difteria cutânea.
15. Há disseminação mínima da exotoxina na corrente sanguínea.

Otite média (p. 679)

16. Dor de ouvido, ou otite média, pode ocorrer como complicação de infecções de nariz e garganta.
17. O acúmulo de pus causa pressão no conduto auditivo.
18. As bactérias causadoras da otite média incluem *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* não encapsulado, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus*.

Doenças virais do trato respiratório superior (p. 679, 680)

Resfriado comum (p. 679, 680)

1. Qualquer um dos aproximadamente 200 vírus diferentes pode causar o resfriado comum; os rinovírus causam cerca de 50% de todos os resfriados.
2. Os sintomas incluem espirros, secreção nasal e congestão.
3. Infecção dos seios nasais, infecções do trato respiratório inferior, laringite e otite média podem ocorrer como complicações dos resfriados.
4. Os *Rhinovirus* multiplicam-se melhor em uma temperatura levemente mais baixa que a corporal.
5. A incidência de resfriados aumenta durante a estação do inverno, possivelmente devido ao aumento do contato interpessoal em ambientes fechados e a mudanças fisiológicas.
6. Os anticorpos são produzidos contra vírus específicos.

DOENÇAS MICROBIANAS DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR (p. 680-699)

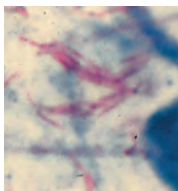
1. Muitos dos mesmos micro-organismos que infectam o trato respiratório superior também infectam o trato respiratório inferior.
2. As doenças do trato respiratório inferior incluem bronquite e pneumonia.

Doenças bacterianas do trato respiratório inferior (p. 680-692)

Coqueluche (tosse comprida) (p. 680-682)

1. A coqueluche é causada pela *Bordetella pertussis*.
2. O estágio inicial da coqueluche lembra um resfriado e é chamado de estágio catarral.
3. O acúmulo de muco na traqueia e nos brônquios causa uma tosse profunda característica do estágio paroxístico (segundo).
4. O estágio de convalescença (terceiro) pode durar meses.
5. A imunização regular de crianças tem diminuído a incidência de coqueluche.

Tuberculose (p. 682-685)

6. A tuberculose é causada por *Mycobacterium tuberculosis*.
7. A grande quantidade de lipídeos na parede celular explica a característica álcool-ácido resistente, bem como sua resistência à dessecação e aos desinfetantes.
8. A bactéria *M. tuberculosis* pode ser ingerida pelos macrófagos alveolares; se não for morta, a bactéria se reproduz no interior dos macrófagos.
9. As lesões formadas por *M. tuberculosis* são denominadas tubérculos; os macrófagos mortos e as bactérias formam a lesão caseosa, que pode calcificar e aparecer em imagens de raios X como complexos de Ghon.
10. A liquefação das lesões caseosas resulta em uma cavidade tuberculosa em que o *M. tuberculosis* pode se multiplicar.
11. Novos focos da infecção podem se desenvolver quando as lesões caseosas se rompem e liberam as bactérias nos vasos sanguíneos e linfáticos; este quadro é denominado tuberculose miliar.
12. A tuberculose miliar é caracterizada por perda de peso, tosse e perda do vigor.
13. A quimioterapia geralmente envolve três ou quatro drogas ingeridas por no mínimo seis meses; *M. tuberculosis* resistente a múltiplas drogas está se tornando prevalente.
14. Um teste cutâneo de tuberculina positivo pode indicar um caso ativo de tuberculose, uma infecção prévia ou vacinação e imunidade à doença.
15. *Mycobacterium bovis* causa tuberculose bovina e pode ser transmitido aos seres humanos pelo leite não pasteurizado.
16. As infecções por *M. bovis* geralmente afetam os ossos ou o sistema linfático.
17. A vacina BCG para a tuberculose consiste em uma cultura viva avirulenta de *M. bovis*.
18. O complexo *M. avium-intracellulare* infecta os pacientes nos estágios tardios da infecção por HIV.

Pneumonias bacterianas (p. 685-690)

19. A pneumonia típica é causada por *S. pneumoniae*.
20. As pneumonias atípicas são causadas por outros micro-organismos.

Pneumonia pneumocócica (p. 685-688)

21. A pneumonia pneumocócica é causada por *Streptococcus pneumoniae* encapsulados.
22. Os sintomas são febre, dificuldade de respirar, dor torácica e escarro cor de ferrugem.
23. A vacina consiste em material capsular purificado de 23 sorotipos de *S. pneumoniae*.

Pneumonia por *Hamophilus influenzae* (p. 688)

24. Alcoolismo, desnutrição, câncer e diabetes são fatores predisponentes para a pneumonia por *H. influenzae*.
25. *H. influenzae* é um cocobacilo gram-negativo.

Pneumonia por micoplasma (p. 688)

26. *Mycoplasma pneumoniae* causa a pneumonia por micoplasma, que é uma doença endêmica.
27. *M. pneumoniae* produz pequenas colônias em forma de "ovo frito" após duas semanas de incubação em meio enriquecido contendo soro equino e extrato de leveduras.

Legionelose (p. 688, 689)

28. A doença é causada pelo bastonete aeróbico gram-negativo *Legionella pneumophila*.
29. A bactéria pode crescer em água, como nas torres de resfriamento de ar condicionado, e então ser disseminada no ar.
30. Essa pneumonia não parece ser transmitida de pessoa a pessoa.

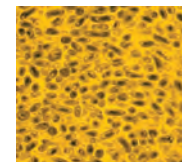
Psitacose (ornitose) (p. 689)

31. *Chlamydophila psittaci* é transmitida pelo contato com fezes contaminadas e exsudatos de aves.
32. Os corpos elementares permitem às bactérias sobreviver fora de um hospedeiro.
33. Os trabalhadores de aviários são mais susceptíveis a essa doença.

Pneumonia por clamídia (p. 689)

34. *Chlamydophila pneumoniae* causa pneumonia e é transmitida de pessoa a pessoa.

Febre Q (p. 689, 690)

35. A *Coxiella burnetii*, um parasita intracelular obrigatório, causa a febre Q.
36. A doença geralmente é transmitida aos seres humanos através de leite não pasteurizado ou inalação de aerossóis em instalações de gado leiteiro.

Melioidose (p. 690-692)

37. A melioidose é causada pela *Burkholderia pseudomallei* e é transmitida por inalação, ingestão ou ferimentos pontuais. Os sintomas incluem pneumonia, sepse e encefalite.

Doenças virais do trato respiratório inferior (p. 692-695)

Pneumonia viral (p. 692)

1. Um grande número de vírus pode causar pneumonia como uma complicação de infecções como a influenza.
2. As etiologias normalmente não são identificadas no laboratório clínico, devido à dificuldade em isolar e identificar os vírus.

Vírus sincicial respiratório (RSV) (p. 692)

3. O RSV é a causa mais comum de pneumonia em lactentes.

Influenza (gripe) (p. 692-695)

4. A gripe é causada pelo vírus *Influenza* e é caracterizada por calafrios, febre, cefaleia e dores musculares gerais.
5. As espículas de hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA) projetam-se do envelope lipídico viral.
6. As amostras virais são identificadas por diferenças antigênicas nas espículas HA e NA; elas também são divididas por diferenças antigênicas em suas proteínas externas (A, B e C).
7. Os isolados virais são identificados por testes de inibição e hemaglutinação e por testes de imunofluorescência com anticorpos monoclonais.
8. As recombinações antigênicas que alteram a natureza antigênica das espículas HA e NA tornam a imunidade natural e a vacinação de valor questionável. As alterações antigênicas pequenas são causadas por mutações.
9. Os óbitos durante uma epidemia de gripe ocorrem geralmente por infecções bacterianas secundárias.
10. Vacinas multivalentes estão disponíveis para idosos e outros grupos de alto risco.
11. A amantadina e a rimantadina são drogas efetivas profiláticas e curativas contra o vírus *Influenza* A.

Doenças fúngicas do trato respiratório inferior (p. 695-699)

1. Os esporos fúngicos são facilmente inalados; eles podem germinar no trato respiratório inferior.
2. A incidência das doenças fúngicas vem aumentando nos últimos anos.
3. As micoses a seguir podem ser tratadas com anfotericina B.

Histoplasmose (p. 695, 696)

4. *Histoplasma capsulatum* causa uma infecção respiratória subclínica que apenas ocasionalmente progride para uma doença grave e generalizada.
5. A doença é adquirida por inalação de conídios transmitidos pelo ar.
6. O isolamento do fungo ou sua identificação em amostras de tecido são necessários para o diagnóstico.

Coccidioidomicose (p. 696, 697)

7. A inalação de artrósporos de *Coccidioides immitis* transmitidos pelo ar pode resultar em coccidioidomicose.
8. A maioria dos casos é subclínica, mas, quando existem fatores predisponentes como fadiga e desnutrição, uma doença progressiva semelhante à tuberculose pode ocorrer.

Pneumonia por *Pneumocystis* (p. 697)

9. *Pneumocystis jirovecii* é encontrado nos pulmões humanos saudáveis.
10. *P. jirovecii* causa doença em pacientes imunossuprimidos.

Blastomicose (blastomicose norte-americana) (p. 697)

11. *Blastomyces dermatitidis* é o agente causador da blastomicose.
12. A infecção começa nos pulmões e pode se disseminar, causando abscessos extensos.

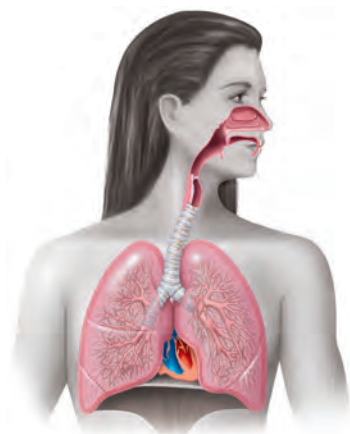
Outros fungos envolvidos em doenças respiratórias (p. 697-699)

13. Os fungos oportunistas podem causar doença respiratória em hospedeiros imunossuprimidos, especialmente quando grandes números de esporos são inalados.
14. Entre estes fungos estão *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Mucor*.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Mostre a localização das seguintes doenças: resfriado comum, difteria, coccidioidomicose, influenza, pneumonia, febre escarlate, tuberculose e coqueluche.

2. Compare e contraste pneumonia por micoplasma e pneumonia viral.
3. Liste os agentes causadores, os sintomas e o tratamento de quatro doenças virais do sistema respiratório. Separe as doenças de acordo com a infecção que ocasionam no trato respiratório superior ou inferior.

4. Complete a seguinte tabela:

Doença	Agente causador	Sintomas	Tratamento
Faringite estreptocócica			
Febre escalarte			
Difteria			
Coqueluche			
Tuberculose			
Pneumonia pneumocócica			
Pneumonia por *H. influenzae*			
Pneumonia por clamídia			
Otite média			
Legionelose			
Psitacose			
Febre Q			
Epiglotite			
Melioidose			

5. Em que condições os saprófitos *Aspergillus* e *Rhizopus* podem causar infecções?

6. Um paciente foi diagnosticado com pneumonia. Essa é uma informação suficiente para começar o tratamento com agentes antimicrobianos? Discuta brevemente porque sim ou não.

7. Liste o agente causador, o modo de transmissão e a área endêmica das doenças histoplasmose, coccidioidomicose, blastomicose e pneumonia por *Pneumocystis*.

8. Descreva brevemente os procedimentos e os resultados positivos do teste de tuberculina e o que significa um teste positivo.

9. Combine as bactérias envolvidas em infecções respiratórias com os seguintes resultados de exames laboratoriais:

Cocos gram-positivos
Catalase-positivo: **a.** ____________________
Catalase-negativo
β-hemolíticos, inibição por bacitracina: **b.** __________
α-hemolíticos, inibição por optoquina: **c.** __________
Bastonetes gram-positivos
Não álcool-ácido resistentes: **d.** ____________________
Álcool-ácido resistentes: **e.** ____________________
Cocos gram-negativos: **f.** ____________________
Bastonetes gram-negativos
Aeróbicos
Cocobacilos: **g.** ____________________
Bastonetes
Crescem em Ágar nutritivo: **h.**____________________
Requerem meios especiais: **i.** ____________________
Anaeróbicos facultativos
Cocobacilos: **j.** ____________________
Parasitas intracelulares
Formam corpos elementares: **k.** ____________________
Não formam corpos elementares: **l.** ____________________
Sem parede: **m.** ____________________

Múltipla escolha

1. Um paciente apresenta febre, dificuldade de respirar, dor torácica, líquido nos alvéolos e um teste cutâneo de tuberculina positivo. Cocos gram-positivos são isolados do escarro. O tratamento recomendado é:
- **a.** Penicilina.
- **b.** Antitoxina.
- **c.** Isoniazida.
- **d.** Tetraciclinas.
- **e.** Nenhuma das alternativas.

2. Nenhum patógeno bacteriano foi isolado do escarro de um paciente com pneumonia. A antibioticoterapia não foi bem-sucedida. A próxima etapa deveria ser:
- **a.** Cultura para *Mycobacterium tuberculosis*.
- **b.** Cultura para *Mycoplasma pneumoniae*.
- **c.** Cultura para fungos.
- **d.** Troca dos antibióticos.
- **e.** Nenhuma; nada mais pode ser feito.

Combine as seguintes opções com as descrições de culturas nas questões 3 a 6:
- **a.** *Chlamydophyla*.
- **b.** *Coccidioides*.
- **c.** *Histoplasma*.
- **d.** *Mycobacterium*.
- **e.** *Mycoplasma*.

3. A cultura de um paciente com pneumonia parece não ter crescido. Contudo, você consegue ver colônias quando a placa é examinada em um aumento de 100×.

4. A etiologia dessa pneumonia requer cultura de células.

5. O exame microscópico de uma biópsia de pulmão mostra células ovoides em macrófagos. Você suspeita que elas são a causa dos sintomas do paciente, mas em sua cultura cresce um organismo filamentoso.

6. O exame microscópico de uma biópsia de pulmão mostra esférulas.

7. Em São Francisco, dez técnicos que cuidavam de animais desenvolveram pneumonia duas semanas após 130 cabras terem sido removidas para o abrigo de animais onde eles trabalhavam. Qual dos seguintes *não* está correto?
- **a.** O diagnóstico é feito por uma cultura de escarro em Ágar sangue.
- **b.** A causa é *Coxiella burnetii*.
- **c.** O agente causador é uma riquétsia.
- **d.** A doença foi transmitida por aerossóis.
- **e.** O diagnóstico é feito por testes de fixação de complemento por anticorpos.

8. Qual dos seguintes leva a todo o resto?
- **a.** Estágio catarral.
- **b.** Tosse.
- **c.** Perda dos cílios.
- **d.** Acúmulo de muco.
- **e.** Citotoxina traqueal.

Combine as seguintes opções com as frases nas questões 9 e 10:
- **a.** *Bordetella pertussis*.
- **b.** *Corynebacterium diphtheriae*.
- **c.** *Legionella pneumophila*.
- **d.** *Mycobacterium tuberculosis*.
- **e.** Nenhuma das alternativas.

9. Causa a formação de uma membrana através da garganta.

10. Resistente à destruição por fagócitos.

Pensamento crítico

1. Diferencie *S. pyogenes* causando faringite estreptocócica e *S. pyogenes* causando febre escarlate.
2. Por que a vacina contra a gripe (Influenza) pode ser menos efetiva que outras vacinas?
3. Explique por que não seria prático incluir vacinas contra o resfriado e a gripe nas vacinações obrigatórias da infância.

Aplicações clínicas

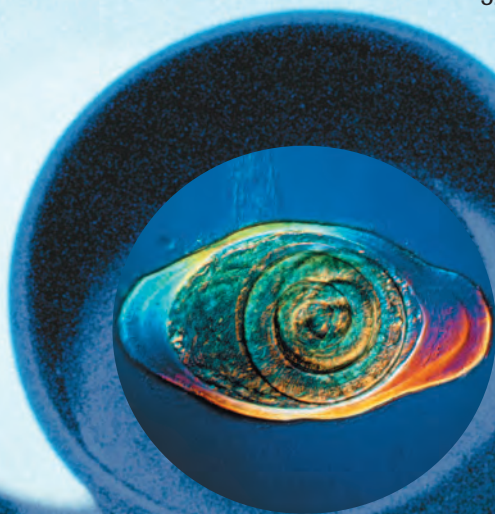
1. Em agosto, um homem de 24 anos do estado norte-americano da Virgínia apresentou dificuldade para respirar e infiltrados nos lobos bilaterais dois meses após dirigir pela Califórnia. Durante a avaliação inicial, suspeitou-se de uma pneumonia típica e ele foi tratado com antibióticos. Os esforços para diagnosticar a pneumonia não tiveram sucesso. Em outubro, uma massa laríngea foi detectada e houve suspeita de câncer de laringe; o tratamento com esteroides e broncodilatadores não resultou em melhora. Uma biópsia de pulmão e laringoscopia detectaram tecido granular difuso. Ele foi tratado com anfotericina B e teve alta após cinco dias. Qual foi a doença? O que poderia ter sido feito de modo diferente para reduzir o período de recuperação do paciente de três meses para uma semana?
2. Durante um período de seis meses, 72 membros da equipe de uma clínica obtiveram testes de tuberculina positivos. Um estudo de casos controle foi realizado para determinar a fonte mais provável da infecção por *M. tuberculosis* entre a equipe. Um total de 16 casos e 34 controles tuberculina-negativos foram comparados. O isetionato de pentamidina não é usado para o tratamento da tuberculose. Que doença provavelmente estava sendo tratada com essa droga? Qual é a fonte mais provável de infecção?

	Casos	Controle
Trabalha ≥40 h/semana	100%	62%
Na sala durante terapia com isetionato de pentamidina em aerossol para pacientes com tuberculose	31	3
Contato com pacientes	94	94
Almoço na sala de descanso da equipe	38	35
Residente do oeste de *Palm Beach*	75	65
Sexo feminino	81	77
Tabagista	6	15
Contato com enfermeira diagnosticada com tuberculose	15	12
Em sala não ventilada durante coleta de amostras de escarro positivas para tuberculose	13	8

3. Em março, seis membros de uma família tiveram febre, anorexia, dor de garganta, tosse, cefaleia, vômitos e dor muscular. Duas pessoas foram hospitalizadas. Todos os seis melhoraram após a terapia com doxiciclina. As amostras de soro dos convalescentes revelaram títulos de 64 e 32. A família tinha comprado uma cacatua em fevereiro e notou que a ave estava irritadiça. A ave foi sacrificada em abril. Um teste com anticorpos fluorescentes para antígenos foi diagnóstico. Qual é a doença? Como foi transmitida?

25 Doenças Microbianas do Sistema Digestório

As doenças microbianas do sistema digestório perdem somente para as doenças respiratórias como causas de doença nos Estados Unidos. A maioria dessas doenças resulta da ingestão de alimento ou água contaminados com micro-organismos patogênicos ou suas toxinas. Esses patógenos geralmente penetram no alimento ou suprimento de água após serem disseminados nas fezes de pessoas ou animais infectados com eles. Assim, as doenças microbianas do sistema digestório são tipicamente transmitidas por um **ciclo fecal-oral**. Esse ciclo é interrompido por práticas efetivas de saneamento e manuseio de alimentos. Métodos modernos de tratamento de efluentes e desinfecção da água são essenciais. Há ainda um aumento consciente da necessidade de desenvolvimento de novos testes que possam detectar rapidamente e de maneira confiável os patógenos nos alimentos (uma mercadoria perecível).

O Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estima que ocorram cerca de 76 milhões de casos de doenças transmitidas por alimentos (*foodborne diseases*), resultando em cerca de 5.000 mortes anualmente nos Estados Unidos. A maioria dos produtos alimentares consumidos nos Estados Unidos – especialmente frutas e vegetais – é cultivada em países com técnicas de saneamento deficientes; estima-se que os surtos devidos a patógenos importados aumentem.

SOB O MICROSCÓPIO

Larvas de *Trichinella spiralis*. Esses pequenos vermes de cerca de 1 mm de comprimento produzem larvas que se tornam encistadas no músculo (como mostrado na foto) e causam a doença triquinelose.

P&R

Os Estados Unidos frequentemente importam queijo e vinho da França. Em troca, os Estados Unidos exportam cavalos para a França. O que isso tem a ver com a triquinelose?

Procure pela resposta neste capítulo.

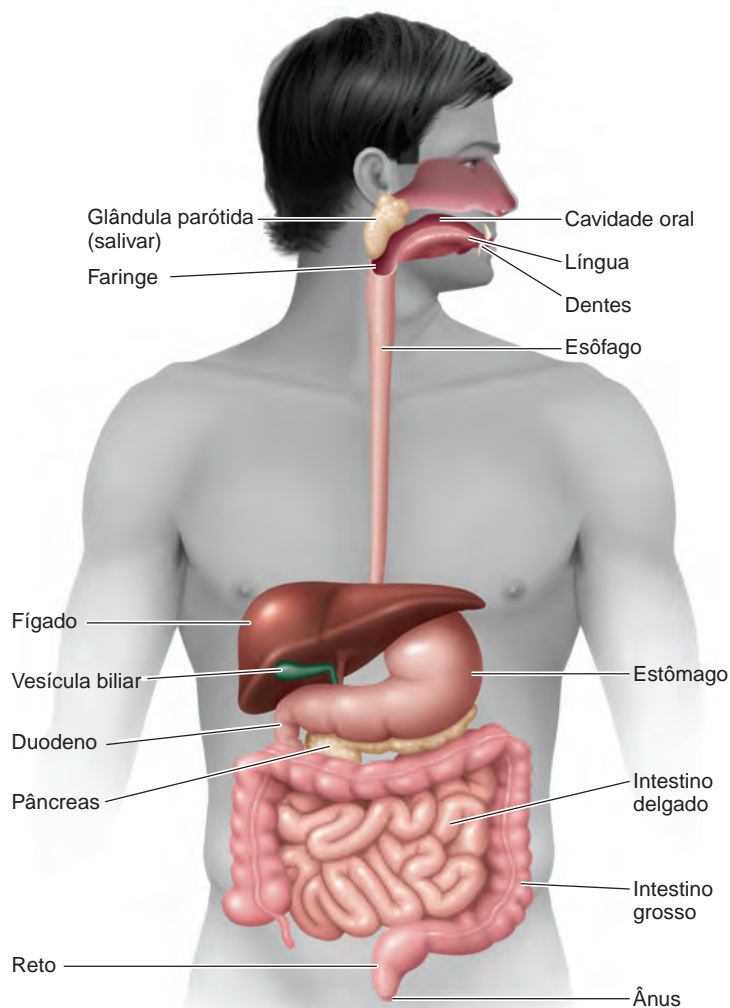



Figura 25.1 **O sistema digestório humano.**

P **Onde os micro-organismos normalmente são encontrados no sistema digestório?**

Estrutura e função do sistema digestório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-1 Nomear as estruturas do sistema digestório que entram em contato com os alimentos.

O **sistema digestório** é essencialmente uma estrutura tubular, o *trato gastrintestinal (GI)* ou *canal alimentar*, que inclui a boca, a faringe (garganta), o esôfago (tubo alimentar que leva ao estomago), o estômago e os intestinos delgado e grosso. Ele também inclui *estruturas acessórias*, como dentes e língua. Outras estruturas acessórias como as glândulas salivares, o fígado, a vesícula biliar e o pâncreas situam-se fora do trato GI e produzem secreções que são enviadas por ductos até ele (**Figura 25.1**).

O objetivo do sistema digestório é digerir os alimentos, isto é, degradá-los em moléculas pequenas que podem ser captadas e utilizadas pelas células do corpo. Em um processo denominado *absorção*, esses produtos finais da digestão passam do intestino delgado ao sangue ou linfa para distribuição às células corporais. Então, o alimento se move através do intestino grosso, onde a água, as vitaminas e os nutrientes são absorvidos. No curso de uma vida com duração média, cerca de 25 toneladas de alimentos passam através do trato GI. Os sólidos resultantes não digeridos, denominados *fezes*, são eliminados do corpo através do ânus. Os gases intestinais, ou *flatos*, são uma mistura de nitrogênio do ar deglutido e dióxido de carbono, hidrogênio e metano produzidos pelos micróbios. Em média, produzimos de 0,5 a 2,0 L de gases por dia.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Houve situações nas quais um cirurgião utilizou instrumental que produzia faíscas na remoção de pólipos intestinais e ocorreu uma pequena explosão. O que era inflamável? **25-1**

Microbiota normal do sistema digestório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-2 Identificar as partes do trato gastrintestinal que normalmente possuem microbiota.

As bactérias povoam densamente a maioria do sistema digestório. Na boca, cada mililitro de saliva pode conter milhões de bactérias. O estômago e o intestino delgado possuem relativamente poucos micro-organismos devido ao ácido hidroclórico produzido pelo estômago e pelo rápido movimento do alimento através do intestino delgado. Em contraste, o intestino grosso possui uma enorme população microbiana, excedendo 100 bilhões de bactérias por grama de fezes. (Até 40% da massa fecal é material celular microbiano.) A população do intestino grosso é composta principalmente de anaeróbicos e anaeróbicos facultativos. A maioria dessas bactérias auxilia na degradação enzimática dos alimentos e algumas delas sintetizam vitaminas úteis.

É importante compreender que o alimento passando pelo trato GI, embora em contato com o corpo, permanece fora dele. Diferente do exterior do corpo, como a pele, o trato GI é adaptado para absorver os nutrientes que passam através dele. Contudo, ao mesmo tempo em que os nutrientes são absorvidos pelo trato GI, micróbios prejudiciais ingeridos no alimento e na água devem ser impedidos de invadir o corpo. Um fator importante nesta defesa é o conteúdo altamente ácido do estômago, que elimina muitos micróbios ingeridos, potencialmente prejudiciais.

O intestino delgado também contém defesas antimicrobianas importantes. De significância entre essas defesas são milhões de células especializadas, cheias de grânulos, chamadas de *células de Paneth*. Elas são capazes de fagocitar as bactérias e também produzem proteínas antibacterianas chamadas de *defensivas* e a enzima antibacteriana *lisozima*.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como a microbiota normal é confinada à boca e ao intestino grosso? **25-2**

Doenças bacterianas da boca

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-3 Descrever os eventos que levam à formação das cáries dentárias e à doença periodontal.

A boca, que é a entrada para o sistema digestório, fornece um ambiente que sustenta uma grande e variada população microbiana.

Cáries dentárias (decaimento dentário)

Os dentes são diferentes de todas as outras superfícies exteriores do corpo. Eles são duros e as células não se destacam da sua superfície (**Figura 25.2**). Isso permite o acúmulo de massas de micro-organismos e seus produtos. Esses acúmulos, denominados **placas dentárias**, são um tipo de biofilme (veja a página 162, Capítulo 6) e estão intimamente envolvidos na formação das **cáries dentárias**, ou **decaimento dentário**.

As bactérias orais convertem a sacarose e outros carboidratos em ácido lático, que por sua vez ataca o esmalte dos dentes. A população microbiana sobre e em torno dos dentes é muito complexa. Com base nos métodos de identificação ribossomal (veja a discussão sobre FISH na página 292, Capítulo 10), mais de 700 espécies foram isoladas da cavidade oral, a maioria não podendo ser cultivada por métodos convencionais. Provavelmente a bactéria *cariogênica* (formadora de cáries) mais importante é o *Streptococcus mutans*, um coco gram-positivo capaz de metabolizar uma variedade maior de carboidratos que qualquer outro organismo gram-positivo. Algumas outras espécies de estreptococos também são cariogênicas, mas desempenham um papel de menor importância na iniciação das cáries.

A iniciação das cáries depende da ligação do *S. mutans* ou outro estreptococo ao dente (**Figura 25.3**). Essas bactérias não se aderem ao dente limpo, mas, dentro de minutos, um dente recém-escovado se torna recoberto por uma película (um filme fino) de proteínas da saliva. Dentro de algumas horas, bactérias cariogênicas se estabelecem nessa película e iniciam a produção de um polissacarídeo aderente de moléculas de glicose, denominado *dextrana* (**Figura 25.3b**). Na produção de dextrana, as bactérias inicialmente hidrolisam a sacarose em seus componentes monossacarídeos, frutose e glicose. A enzima glicosiltransferase então monta as moléculas de glicose em dextrana. A frutose residual é o açúcar primário fermentado em ácido lático. O acúmulo de bactérias e dextrana aderido aos dentes compõe a placa dentária.

A população bacteriana da placa pode abrigar mais de 400 espécies, mas é composta predominantemente de estreptococos e membros filamentosos do gênero *Actinomyces*. (Os depósitos mais antigos e calcificados de placas são denominados *cálculo dentário* ou *tártaro.*) *S. mutans* favorece especialmente as fendas ou outros locais nos dentes protegidos da ação dispersiva da mastigação ou da ação de lavagem de cerca de um litro de saliva produzido na boca por dia. Nas áreas protegidas dos dentes, os acúmulos de placa podem ter várias centenas de células de espessura. Como a placa não é muito permeável à saliva, o ácido lático produzido pelas bactérias não é diluído ou neutralizado e rompe o esmalte dos dentes ao qual a placa se adere.

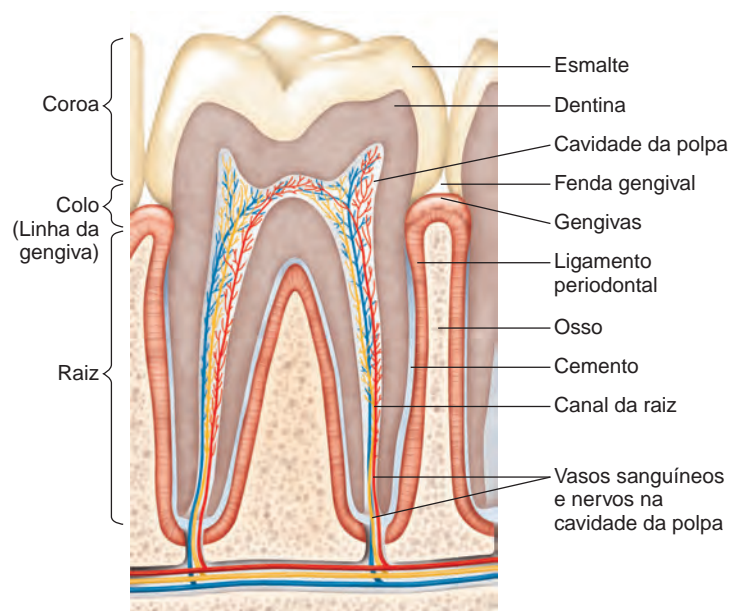



Figura 25.2 **Um dente humano saudável.**

P **Como um biofilme pode se acumular nos dentes?**

Embora a saliva contenha nutrientes que estimulam o crescimento de bactérias, também contém substâncias antimicrobianas, como a lisozima, que ajudam a proteger as superfícies dentárias expostas. Alguma proteção também é fornecida pelo *fluido crevicular*, um exsudato que flui nas fendas gengivais (veja a Figura 25.2) e é mais parecido em sua composição com o soro do que com a saliva. Ele protege os dentes devido à sua ação de lavagem, suas células fagocíticas e seu conteúdo de imunoglobulina.

A produção localizada de ácido dentro dos depósitos de placa dentária resulta no amolecimento gradual do esmalte externo. Um esmalte pobre em fluoreto é mais suscetível aos efeitos do ácido. Essa é a razão para a fluoretação da água e das pastas de dente, que tem sido um fator significativo no declínio das cáries dentárias nos Estados Unidos.

A **Figura 25.4** mostra os estágios da cárie. Se a penetração inicial do esmalte pelas cáries não é tratada, as bactérias podem penetrar no interior do dente. A composição da população bacteriana envolvida na disseminação da área cariada do esmalte até a *dentina* é totalmente diferente da população que inicia a cárie. Os micro-organismos dominantes são bastonetes gram-positivos e bactérias filamentosas; *S. mutans* está presente apenas em pequenos números. Embora antigamente fosse considerado a causa das cáries dentárias, *Lactobacillus* spp. realmente não desempenha nenhum papel

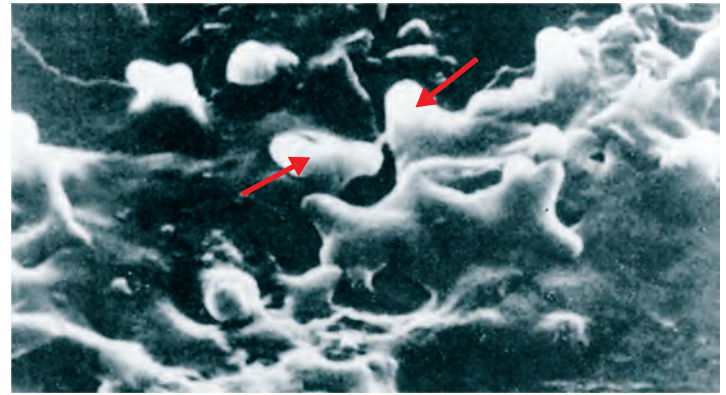
(a) *S. mutans* crescendo em caldo de glicose.

(b) *S. mutans* crescendo em caldo de sacarose; observe o acúmulo de dextrana. As setas indicam as células *S. mutans*.

Figura 25.3 **O papel do *Streptococcus mutans* e da sacarose na cárie dental.**

P **O que é placa dentária?**

na iniciação do processo. Porém, esses produtores muito prolíficos de ácido lático são importantes no avanço da cárie, uma vez que ela se torna estabelecida.

A área cariada eventualmente avança até a *polpa* (ver a Figura 25.4), que se conecta com os tecidos da mandíbula e contém o suprimento sanguíneo e as células nervosas. Quase todos os membros da microbiota normal da boca podem ser isolados da polpa infectada e das raízes. Uma vez que esse estágio seja atingido, um tratamento de canal é necessário para remover o tecido infectado e morto e fornecer acesso às drogas antimicrobianas que suprimem a infecção. Se não for tratada, a infecção pode avançar do dente aos tecidos moles, produzindo abscessos dentários causados por populações bacterianas mistas, que contêm muitos anaeróbicos.

Embora as cáries dentárias provavelmente estejam entre as doenças infecciosas mais comuns em seres humanos hoje, eram raras no mundo ocidental até meados do século XVII. Em restos humanos de tempos mais antigos, somente cerca de 10% dos dentes continham cáries. A introdução do açúcar de mesa, ou sacarose, na dieta é altamente correlacionada ao nível atual de cáries no mundo ocidental. Estudos demonstraram que a sacarose, um dissacarídeo composto de glicose e frutose, é muito mais cariogênica que a glicose ou a frutose individualmente (veja a Figura 25.3). Pessoas que seguem dietas ricas em amido (o amido é um polissacarídeo da glicose) têm baixa incidência de cárie dentária, a menos que a sacarose também seja uma parte significativa da dieta. A contribuição das bactérias à cárie dentária foi demonstrada por experimentos com animais livres de germes. Esses animais não desenvolvem cáries mesmo quando alimentados com uma dieta rica em sacarose designada a estimular sua formação.

A presença da sacarose é constante na dieta ocidental moderna. Contudo, se a sacarose for ingerida somente nas refeições regulares,

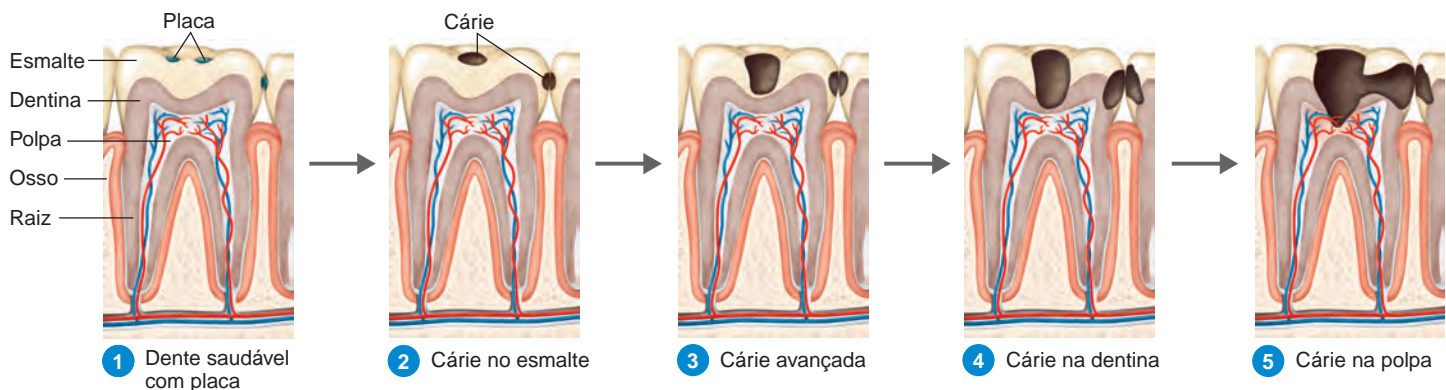



Figura 25.4 **Os estágios da cárie dentária.** 1 Um dente com acúmulo de placa em áreas difíceis de limpar. 2 A cárie começa à medida que o esmalte é atacado por ácidos formados por bactérias. 3 A cárie avança através do esmalte. 4 A cárie avança na dentina. 5 A cárie penetra na polpa e pode formar abscessos nos tecidos que circundam a raiz.

P **Por que a formação da placa é importante na cárie dentária?**

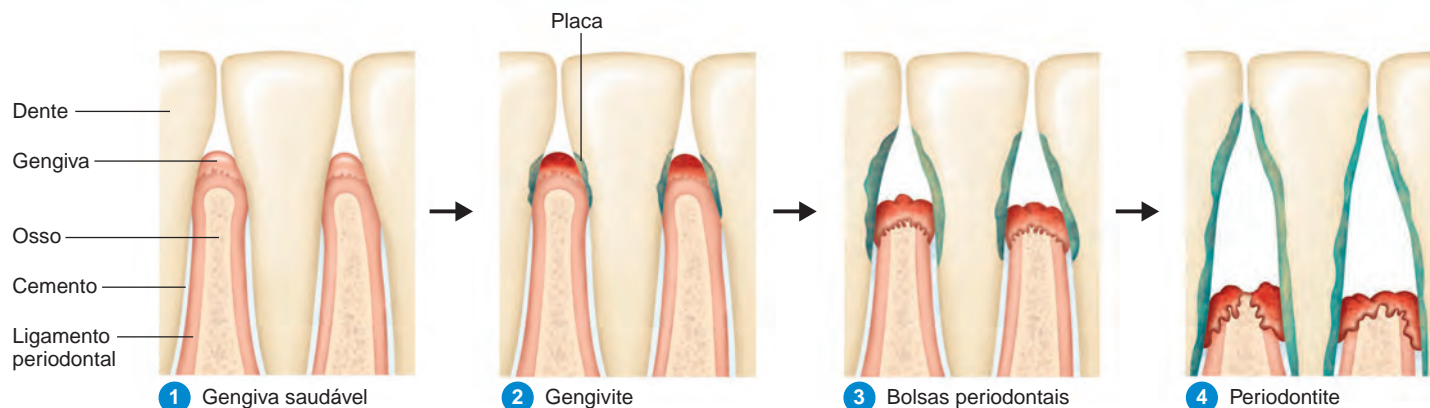



Figura 25.5 **Os estágios da doença periodontal.** ❶ Dentes firmemente ancorados por osso e gengiva saudáveis. ❷ Toxinas na placa irritam as gengivas, causando gengivite. ❸ Bolsões periodontais se formam à medida que o dente se separa da gengiva. ❹ A gengivite progride para periodontite. As toxinas destroem a gengiva, o osso que suporta o dente e o cemento que protege a raiz.

P **Qual a causa da escova de dente cor-de-rosa?**

os mecanismos protetores e de reparo do corpo geralmente não são sobrecarregados. A sacarose que é ingerida entre as refeições é a mais nociva aos dentes. Os açúcares alcoólicos como o manitol, o sorbitol e o xilitol não são cariogênicos. Aparentemente, o xilitol inibe o metabolismo do carboidrato de *S. mutans*. É por isso que esses açúcares alcoólicos são usados para adoçar balas e goma de mascar "sem açúcar".

As melhores estratégias para prevenir a cárie dentária são uma ingestão mínima de sacarose; escovação, uso de fio dental e limpeza profissional para remover a placa; e o uso de fluoreto. A remoção profissional da placa e do tártaro em intervalos regulares diminui a progressão da doença periodontal.

Doença periodontal

Mesmo as pessoas que evitam a cárie dentária podem, anos mais tarde, perder seus dentes devido à **doença periodontal**, um termo que indica uma série de condições caracterizadas por inflamação e degeneração das estruturas que dão suporte aos dentes (**Figura 25.5**). As raízes dos dentes são protegidas por um revestimento de tecido conjuntivo especializado denominado *cemento*. À medida que as gengivas se retraem com a idade, a formação de cáries no cemento torna-se mais comum.

Gengivite

Em muitos casos de doença periodontal, a infecção é restrita às gengivas. Essa inflamação resultante, denominada **gengivite**, é caracterizada por sangramento das gengivas quando os dentes são escovados (veja a Figura 25.5). Essa é uma condição experimentada por pelo menos metade da população adulta. Demonstrou-se experimentalmente que a gengivite surge em poucas semanas se a escovação é interrompida e a placa se acumula. Uma variedade de estreptococos, actinomicetos e bactérias anaeróbicas gram-negativas predomina nessas infecções.

Periodontite

A gengivite pode progredir para uma condição crônica denominada **periodontite**. Essa é uma condição insidiosa, que geralmente causa pouco desconforto. Cerca de 35% dos adultos sofrem de periodontite, que está aumentando em incidência à medida que mais pessoas conservam seus dentes na velhice. As gengivas estão inflamadas e sangram facilmente. Algumas vezes forma-se pus em bolsões circundando os dentes (*bolsões periodontais*; veja a Figura 25.5). À medida que a infecção continua, ela avança em direção às pontas da raiz. O osso e o tecido que suportam os dentes são destruídos, levando ao afrouxamento e à perda dos dentes. Numerosas bactérias de muitos tipos diferentes, principalmente espécies de *Porphyromonas*, são encontradas nestas infecções; o dano tecidual é induzido por uma resposta inflamatória à presença dessas bactérias. A periodontite pode ser tratada eliminando cirurgicamente os bolsões periodontais.

A **gengivite ulcerativa necrosante aguda**, também denominada **doença de Vincent**, ou "boca de trincheira", é uma das mais comuns infecções graves da boca. A doença causa tanta dor que dificulta a mastigação normal. Mau hálito (halitose) também acompanha a infecção. Entre as bactérias geralmente associadas a essa condição está *Prevotella intermedia*, presente em cerca de 24% dos isolados. Uma vez que esses patógenos são em geral anaeróbicos, o tratamento com agentes oxidantes, debridamento e administração de metronidazol pode ser temporariamente efetivo. As doenças bacterianas da boca estão resumidas em Doenças em Foco 25.1.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que os doces e as gomas de mascar "sem açúcar", os quais, na verdade, contêm açúcares alcoólicos, são considerados não cariogênicos (causadores de cáries)? **25-3**

DOENÇAS EM FOCO 25.1

Doenças bacterianas da boca

A maioria dos adultos mostra sinais de doenças gengivais, e cerca de 14% dos adultos norte-americanos com idade de 45 a 54 anos têm um caso grave. Use a tabela para identificar as infecções que podem causar dor persistente, inchaço, vermelhidão ou sangramento da gengiva, bem como dor de dente ou sensibilidade e mau hálito.

Este bastonete gram-negativo responde por cerca de um quarto dos casos.

Doença	Patógeno	Sintomas	Tratamento	Prevenção
Cáries dentárias	Principalmente *Streptococcus mutans*	Descoloração ou perfuração no esmalte dentário	Remoção da área deteriorada	Escovação, uso de fio dental, redução da dieta de açúcar
Doença periodontal	Vários, principalmente *Porphyromonas* spp.	Sangramento de gengiva, bolsões de pus	Remoção da área lesionada, antibióticos	Remoção da placa
Gengivite ulcerativa necrosante aguda	*Prevotella intermedia*	Mastigação dolorida, halitose	Remoção da área lesionada, metronidazol	Escovação, uso de fio dental

Doenças bacterianas do sistema digestório inferior

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-4 Listar os agentes causadores, os alimentos suspeitos, os sinais e os sintomas e os tratamentos da intoxicação alimentar por estafilococos, da shigelose, da salmonelose, da febre tifoide, da cólera, da gastrenterite e da doença da úlcera péptica.

As doenças do sistema digestório são essencialmente de dois tipos: infecções e intoxicações.

Uma **infecção** ocorre quando um patógeno penetra no trato GI e se multiplica. Os micro-organismos podem penetrar na mucosa intestinal e crescer ali ou podem passar para outros órgãos sistêmicos. As **células M** têm a função de translocar antígenos e micro-organismos para o outro lado do epitélio, onde irão entrar em contato com tecidos linfoides (placas de Peyer) para iniciar uma resposta imune (veja a página 486 e a Figura 17.9). Infecções do trato GI são caracterizadas por um atraso no aparecimento dos distúrbios gastrintestinais enquanto o patógeno aumenta em número ou afeta o tecido invadido. Em geral também há a ocorrência de febre, uma das respostas do corpo a um organismo infeccioso.

Alguns patógenos causam doença pela formação de toxinas que afetam o trato GI. Uma **intoxicação** é causada pela ingestão da toxina pré-formada. A maioria das intoxicações, como aquelas causadas por *Staphylococcus aureus*, é caracterizada pelo aparecimento súbito (em geral em apenas algumas horas) de sintomas de distúrbios GI. A febre é um dos sintomas menos frequentes.

Ambas, infecções e intoxicações, frequentemente causam *diarreia*, que a maioria de nós já vivenciou. Uma diarreia intensa com sangue ou muco é denominada **disenteria**. Ambos os tipos de doenças do sistema digestório também são frequentemente acompanhados por *cólicas abdominais*, *náuseas* e *vômitos*. A diarreia e o vômito são mecanismos de defesa criados para livrar o corpo de materiais prejudiciais.

O termo genérico **gastrenterite** é aplicado a doenças que causam inflamação na mucosa gástrica e intestinal. O botulismo é um caso especial de intoxicação, pois a ingestão de toxina pré-formada afeta o sistema nervoso, em vez do trato GI (veja o Capítulo 22, página 616).

Nos países em desenvolvimento, a diarreia é o principal fator na mortalidade infantil. Aproximadamente uma criança em cada quatro morre antes dos cinco anos. Estima-se que a mortalidade por diarreia na infância poderia ser reduzida à metade pela *terapia de reidratação oral* (reposição de fluidos e eletrólitos). Essa geralmente é uma solução de cloreto de sódio, cloreto de potássio, glicose e bicarbonato de sódio para repor o líquido e os eletrólitos perdidos. Essas soluções são vendidas em farmácias. Os departa-

mentos de saúde pública frequentemente determinam a incidência de diarreia na população pelos relatórios semanais das vendas das preparações de reidratação oral.

As doenças do sistema digestório são frequentemente relacionadas à ingestão de alimentos.

Intoxicação alimentar estafilocócica (enterotoxicose estafilocócica)

Uma das principais causas de gastrenterite é a **intoxicação alimentar estafilocócica**, uma intoxicação causada pela ingestão de uma enterotoxina produzida por *S. aureus*. Os estafilococos são comparativamente resistentes aos estresses ambientais, como discutido na página 318. Eles também possuem uma resistência bastante alta ao calor; as células vegetativas podem tolerar 60°C por meia hora. Sua resistência à dessecação e à radiação auxilia-os a sobreviver nas superfícies cutâneas. A resistência a pressões osmóticas elevadas auxilia-os a crescer em alimentos, como o presunto salgado, em que uma alta pressão osmótica dos sais inibe o crescimento de competidores.

S. aureus frequentemente habita as passagens nasais, a partir das quais contamina as mãos. Ele também é uma causa frequente de lesões cutâneas nas mãos. Dessas fontes, pode facilmente penetrar no alimento. Se os micróbios forem incubados nos alimentos, uma situação denominada **temperatura de abuso,** reproduzem-se e liberam enterotoxina no alimento. Esses eventos, que levam a surtos de intoxicação estafilocócica, são ilustrados na Figura 25.6.

S. aureus produz várias toxinas que causam dano aos tecidos ou aumentam a virulência do micro-organismo. A produção da toxina do tipo sorológico A (que é responsável pela maioria dos casos) frequentemente é correlacionada com a produção de uma enzima que coagula o plasma. Essas bactérias são descritas como *coagulase-positivas*. Nenhum efeito patogênico direto pode ser atribuído à enzima, mas é útil em uma tentativa de identificação dos tipos que provavelmente são virulentos.

Geralmente, uma população de cerca de um milhão de bactérias por grama de alimento produzirá enterotoxina suficiente para causar doença. O crescimento do micróbio é facilitado se os micro-organismos competidores no alimento são eliminados – pelo cozimento, por exemplo. Também é mais provável que cresça se as bactérias competidoras forem inibidas por uma pressão osmótica maior do que o normal ou por um nível de umidade relativamente baixo. *S. aureus* tende a superar a maioria das bactérias competidoras sob essas condições.

Pudins, tortas de creme e presunto são exemplos de alimentos de alto risco. Os micróbios competidores são minimizados em pudins pela alta pressão osmótica do açúcar e pelo cozimento. No presunto, eles são inibidos por agentes de cura como os sais e os conservantes. Os produtos derivados de aves também podem abrigar estafilococos se forem manuseados e deixados por algum tempo em temperatura ambiente. Uma vez que o estafilococo não compete bem com o grande número de micro-organismos que o hambúrguer contém, ele raramente é um fator de intoxicação alimentar nesse tipo de alimento. Quaisquer alimentos preparados com antecedência e não mantidos sob refrigeração são uma fonte potencial de intoxicação alimentar estafilocócica. Uma vez que a contaminação do alimento por mãos humanas não pode ser evitada completamente, o método mais confiável de prevenir a intoxicação alimentar estafilocócica é a refrigeração adequada durante o armazenamento, para impedir a formação de toxina.

Figura 25.6 Sequência de eventos em um surto típico de intoxicação alimentar estafilocócica.

P Como a intoxicação estafilocócica difere de uma infecção alimentar causada por vírus?

A toxina rapidamente ativa o centro reflexo do vômito no cérebro; cólicas abdominais e diarreia geralmente vêm a seguir. Essa reação é essencialmente de caráter imunológico; a enterotoxina estafilocócica é um exemplo modelo de superantígeno (veja a página 436). A recuperação normalmente estará completa dentro de 24 horas.

A taxa de mortalidade da intoxicação alimentar estafilocócica é quase zero entre pessoas consideradas saudáveis, mas pode ser significativa em indivíduos enfraquecidos, como os residentes de clínicas geriátricas. Nenhuma imunidade confiável resulta da recuperação. Contudo, existe uma grande variação na suscetibilidade individual à toxina; suspeita-se de que a imunidade adquirida por uma exposição prévia possa responder por parte dessa variação.

O diagnóstico da intoxicação alimentar estafilocócica geralmente tem como base os sintomas, em especial o curto período de incubação característico da intoxicação. Se o alimento não foi reaquecido, de modo que as bactérias não foram mortas, o patógeno

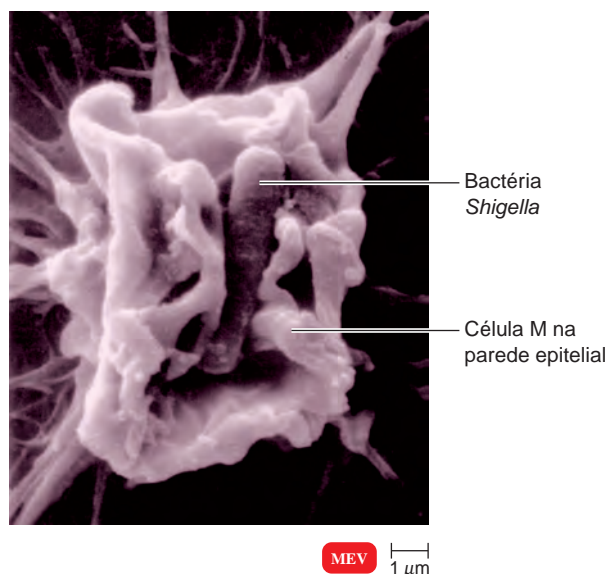



Figura 25.7 Invasão da parede intestinal pela bactéria *Shigella*. Observe como a membrana se projeta na superfície da célula M da parede epitelial do intestino circundando a célula bacteriana. A invasão por bactérias *Salmonella* é muito similar (veja também a Figura 15.2).

P Se uma bactéria obtém sucesso em deixar o interior do intestino, que elementos do sistema imune lidarão com ela?

pode ser recuperado e cultivado. Os isolados de *S. aureus* podem ser testados para *tipagem de fago*, um método usado para rastrear a fonte da contaminação (veja a Figura 10.13, página 290). Essas bactérias crescem bem em cloreto de sódio a 7,5%, e essa concentração frequentemente é usada em meios para seu isolamento seletivo. Os estafilococos patogênicos em geral fermentam manitol, produzem hemolisinas e coagulase e formam colônias amarelo-ouro. Quando crescem nos alimentos, eles não os estragam de maneira óbvia. Detectar a toxina em amostras de alimento sempre foi um problema; pode haver somente 1 a 2 nanogramas em 100 g de alimento. Métodos sorológicos confiáveis tornaram-se comercialmente disponíveis apenas recentemente.

Shigelose (disenteria bacilar)

As infecções bacterianas como a salmonelose e a shigelose geralmente têm períodos de incubação mais longos (de 12 horas a 2 semanas) que as intoxicações bacterianas, refletindo o tempo necessário para o micro-organismo crescer no hospedeiro. As infecções bacterianas com frequência são caracterizadas por febre, indicando a resposta do hospedeiro à infecção.

A **shigelose**, também conhecida como **disenteria bacilar**, para diferenciá-la da disenteria amebiana (página 731), é uma forma grave de diarreia causada por um grupo de bastonetes gram-negativos anaeróbicos facultativos do gênero *Shigella*. O gênero foi nomeado pelo microbiologista japonês Kiyoshi Shiga. As bactérias não possuem reservatório natural nos animais e são transmitidas de pessoa a pessoa. Surtos são vistos com mais frequência em famílias, abrigos e alojamentos similares. Existem quatro espécies patogênicas de *Shigella*: *S. sonnei*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* e *S. boydii*. Estas bactérias são residentes somente do trato intestinal de seres humanos, chimpanzés e macacos. Elas estão intimamente relacionadas à *E. coli* patogênica.

A espécie mais comum nos Estados Unidos é a *S. sonnei*; ela causa uma disenteria relativamente leve. Muitos casos da chamada diarreia dos viajantes podem ser formas leves de shigelose. No outro extremo, a infecção com *S. dysenteriae* frequentemente resulta em disenteria grave e prostração. A toxina responsável é surpreendentemente virulenta e é conhecida como **toxina Shiga** (veja *E. coli* entero-hemorrágica, página 717). *S. dysenteriae* é a espécie menos comum nos Estados Unidos.

A dose infecciosa requerida para causar doença é pequena; as bactérias não são muito afetadas pela acidez do estômago. Elas proliferam até números imensos no intestino delgado, mas o principal sítio da doença é o intestino grosso. Neste local, as bactérias se fixam a determinadas células epiteliais. As projeções membranosas na superfície das células M levam as bactérias para o interior das células (**Figura 25.7**). As bactérias se multiplicam nas células e rapidamente se disseminam para as células vizinhas, produzindo a toxina Shiga, destruindo os tecidos (**Figura 25.8**). A disenteria é o resultado do dano às paredes intestinais.

A disenteria da shigelose pode causar até 20 evacuações em um dia. Os sintomas adicionais de infecção são cólicas abdominais e febre. As bactérias *Shigella* raramente invadem a corrente sanguínea. Os macrófagos não somente falham em matar as bactérias *Shigella* que fagocitam, mas também são mortos por elas. O diagnóstico em geral tem como base a recuperação de micróbios de raspados retais.

O CDC calcula que cerca de 450.000 casos de shigelose ocorram anualmente, a maioria por *S. sonnei*, acometendo principalmente crianças com menos de 5 anos. *S. dysenteriae* tem uma taxa de mortalidade significativa, podendo atingir 20% em áreas tropicais, onde ela é prevalente. Parece haver certa imunidade após a recuperação, mas uma vacina satisfatória ainda não foi desenvolvida.

Em casos graves de shigelose, a antibioticoterapia e a reidratação oral são indicadas. Atualmente, as fluoroquinolonas são os antibióticos de escolha.

Salmonelose (gastrenterite por *Salmonella*)

As bactérias *Salmonella* (nomeadas por seu descobridor, Daniel Salmon) são bastonetes gram-negativos, anaeróbicos facultativos e não formadores de esporos. Seu habitat normal é o trato intestinal dos seres humanos e de muitos animais. Todas as salmonelas são consideradas patogênicas em algum grau, causando **salmonelose**, ou **gastrenterite por *Salmonella***. Patogenicamente, as salmonelas são divididas em *salmonela tifoide* (veja a febre tifoide, página 714) e *salmonela não tifoide*, que causa uma salmonelose branda.

A nomenclatura dos micróbios *Salmonella* difere da nomenclatura normal. Em vez de espécies reconhecidas, existem mais de 2 mil sorotipos (ou sorovares), dos quais somente cerca de 50 são isolados com alguma frequência nos Estados Unidos (para

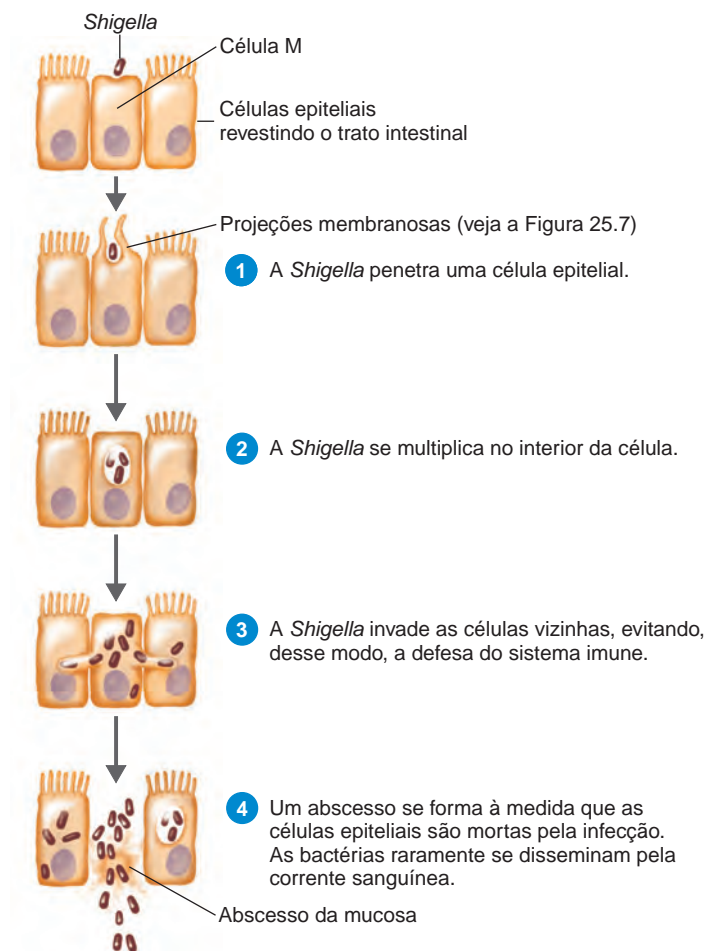



Figura 25.8 Shigelose. Esta figura mostra a sequência da infecção na parede intestinal. A bactéria se liga a uma célula M (veja a Figura 25.7) do epitélio da parede localizado sobre uma placa de Peyer (veja a página 486 e a Figura 17.9). Esta é uma região adaptada para facilitar a transferência de antígenos através da mucosa intestinal.

P Que espécies de *Shigella* são mais perigosas?

Figura 25.9 Salmonelose. Esta figura mostra a sequência da infecção da parede intestinal. Compare com a Figura 25.8 mostrando a infecção por *Shigella*. Observe que a invasão da corrente sanguínea, que raramente ocorre, pode resultar em choque séptico.

P Por que a salmonelose apresenta um período de incubação mais longo que o de uma intoxicação bacteriana?

uma discussão sobre a nomenclatura das salmonelas, veja a página 310). Para resumir, muitos taxonomistas consideram-nas pertencentes a somente duas espécies, principalmente *Salmonella enterica*. Dessa forma, você pode encontrar nomenclatura como *S. enterica* sorotipo *Typhimurium*, em vez do nome convencional *S. typhimurium*.

A salmonela primeiro invade a mucosa intestinal e ali se multiplica. Ocasionalmente ela dirige a passagem através da mucosa intestinal, nas células M, para penetrar nos sistemas linfático e cardiovascular e dali pode se disseminar, eventualmente, para afetar muitos órgãos (**Figura 25.9**). Elas se replicam rapidamente dentro dos macrófagos. A salmonelose tem um período de incubação de cerca de 12 a 36 horas. Geralmente há uma febre moderada, acompanhada de náuseas, dor abdominal, cólicas e diarreia. Até 1 bilhão de salmonelas por grama pode ser encontrado nas fezes de uma pessoa infectada durante a fase aguda da doença.

A taxa de mortalidade em geral é muito baixa, provavelmente menos de 1%. Contudo, é maior em lactentes e indivíduos idosos; a morte geralmente é por choque séptico. A gravidade e o período de incubação podem depender do número de *Salmonella* ingerido. Normalmente, a recuperação é completa em alguns dias, mas muitos pacientes continuam a disseminar o organismo em suas fezes por até seis meses. A antibioticoterapia não é útil no tratamento da salmonelose ou, de fato, em muitas doenças diarreicas; o tratamento consiste em terapia de reidratação oral.

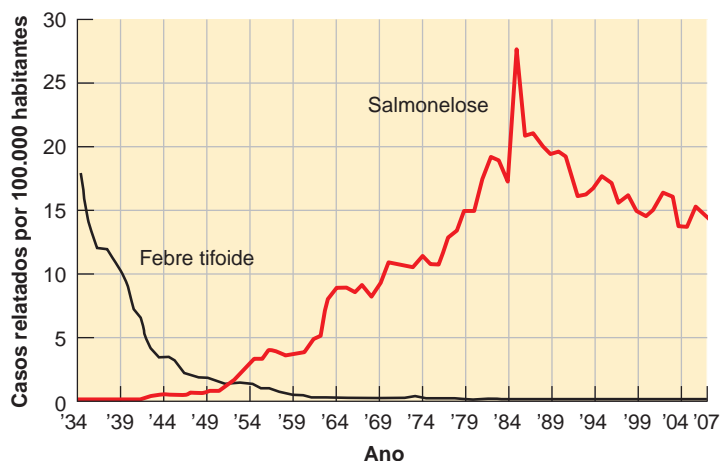



Figura 25.10 A incidência de salmonelose e febre tifoide. Um importante fator ao comparar as duas doenças é que a transmissão da febre tifoide ocorre quase exclusivamente entre seres humanos, e a transmissão da salmonelose é principalmente entre produtos animais e seres humanos.

Fonte: CDC. *MMWR* 56(52), 04 de janeiro de 2008.

P Você poderia sugerir razões para a mudança na prevalência destas duas doenças?

A salmonelose provavelmente é pouco relatada. Há uma estimativa de 1,4 milhão de casos e 400 óbitos a cada ano (**Figura 25.10**). Os produtos à base de carne são particularmente suscetíveis à contaminação por *Salmonella*. Reptéis de estimação, como tartarugas e iguanas, também são uma fonte de contaminação; o estado de portador nestes animais atinge 90%. Na verdade, a venda de pequenas tartarugas (menores que 10 cm) está proibida pela FDA devido ao risco de que crianças possam colocá-las na boca. *S. enteritidis* e *S. tiphymurium* são especialmente bem adaptadas a aves de produção comercial. Galinhas são altamente suscetíveis à infecção, e as bactérias contaminam os ovos. As bactérias desenvolveram a capacidade de sobreviver na albumina, que contém conservantes naturais como lisozimas (veja a página 453) e lactoferrina (que liga o ferro que as bactérias requerem). Estima-se que um em cada 20 mil ovos nos Estados Unidos esteja contaminado com *Salmonella*. Autoridades da saúde advertem o público para ingerir somente ovos bem cozidos. Um fator frequentemente insuspeito é a presença de ovos crus ou inadequadamente cozidos em alimentos como molho holandês, coberturas de biscoitos e salada César. Surpreendentemente, fontes frequentes de doença transmitida por alimentos a partir da ingestão de *Salmonella* e *E. coli* O157:H7 tem sido brotos de alfafa crua e tomates (veja o quadro na página 715).

A prevenção também depende de boas medidas de saneamento para deter a contaminação e de refrigeração correta para impedir o aumento no número de bactérias. Recentemente tem sido possível oferecer ovos em que as salmonelas foram mortas utilizando um procedimento especial de pasteurização com água quente que não cozinha os ovos. Entretanto, eles são muito caros. Os micróbios geralmente são destruídos pelo cozimento normal. A galinha, por exemplo, deve ser cozida sob temperaturas de 76° a 82°C, e a carne moída a 71°C. Contudo, o alimento contaminado pode contaminar uma superfície, como uma tábua de cortar carne. Embora o alimento inicialmente preparado na tábua possa posteriormente ser cozido e suas bactérias mortas, outro alimento preparado subsequentemente na tábua poderá não ser cozido.

O diagnóstico geralmente depende de isolar o patógeno nas fezes do paciente ou nos restos de alimento. O isolamento requer meio especializado seletivo e diferencial; esses métodos são relativamente lentos. Além disso, o pequeno número de *Salmonella* geralmente encontrado nos alimentos representa um problema especial na detecção. A dose infectiva pode ser tão pequena quanto 1.000 bactérias. Atualmente, testes com base na PCR são os mais promissores para detectar pequenas quantias de *Salmonella* em alimentos. Estes testes requerem cerca de cinco horas e identificam os sorotipos clínicos mais comuns.

Febre tifoide

O sorotipo mais virulento de *Salmonella*, a *S. typhi*, causa a **febre tifoide**. Ao contrário das salmonelas que causam salmonelose, este patógeno não é encontrado em animais; ele é disseminado somente nas fezes de outros seres humanos. Nos períodos que antecederam o descarte apropriado do lixo, o tratamento da água e a sanitização de alimentos, a febre tifoide era extremamente comum. Sua incidência diminuiu nos Estados Unidos, enquanto a incidência da salmonelose aumentou (veja a Figura 25.10). A febre tifoide ainda é uma causa frequente de morte em algumas partes do mundo com controle sanitário deficiente, com uma estimativa anual de meio milhão.

Em vez de ser destruída por células fagocíticas, *S. typhi* se multiplica dentro delas e se dissemina em múltiplos órgãos, especialmente no baço e no fígado. No final, as células fagocíticas sofrem lise e liberam a *S. typhi* na corrente sanguínea. O tempo necessário para que isso ocorra explica por que o período de incubação da febre tifoide (2 ou 3 semanas) é maior que o da salmonelose (12 a 36 horas). O paciente com febre tifoide apresenta febre alta de 40°C e cefaleia contínua. A diarreia surge somente na segunda ou terceira semana, e a febre tende a declinar. Em casos graves, que podem ser fatais, ulceração e perfuração da parede intestinal podem ocorrer. Antes da antibioticoterapia estar disponível, uma taxa de mortalidade de 20% era comum; com os tratamentos disponíveis hoje, é de menos de 1%.

Cerca de 1 a 3%, um número substancial de pacientes recuperados, tornam-se *portadores crônicos*. Eles abrigam o patógeno na vesícula biliar e continuam a disseminar bactérias por vários meses. Alguns desses portadores continuam a disseminar o organismo indefinidamente. O exemplo clássico de um portador de febre tifoide foi Mary Typhoid. Seu nome era Mary Mallon; ela trabalhava como cozinheira no estado de Nova York no início do século XX e foi responsável por vários surtos de febre tifoide e três óbitos. Seu caso ficou conhecido por meio das tentativas do estado de impedi-la de trabalhar na profissão que ela havia escolhido.

Recentemente, ocorreram cerca de 350 a 400 casos anuais de febre tifoide nos Estados Unidos, dos quais 70% foram adquiridos durante viagens ao exterior. Normalmente, existem menos de três óbitos a cada ano.

Quando o antibiótico cloranfenicol foi introduzido, em 1948, a febre tifoide tornou-se uma doença tratável. Embora o cloranfenicol tenha sido substituído, em sua maioria, por antibióticos mais

FOCO CLÍNICO Do Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade (*Morbidity and Mortality Weekly Report*)

Uma infecção alimentar

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os epidemiologistas se fazem quando tentam resolver um problema clínico. Tente responder as questões como um epidemiologista.

1. Em 29 de junho, uma mulher de 36 anos em Ohio foi hospitalizada com uma história de três dias de náuseas, vômito e diarreia. Ela tinha uma temperatura de 39,5ºC e estava desidratada.
   Que amostra deve ser coletada da paciente para determinar a causa de seus sinais e sintomas?
2. Na cultura de fezes cresceram bactérias gram-negativas, não fermentadoras de lactose.
   Você poderia identificar estas bactérias? (Veja a fotografia.)
3. A paciente estava entre os 459 casos confirmados por cultura de surto de salmonelose em 21 estados.
   Que informação você tentaria obter destes pacientes?
4. Nenhum restaurante ou cadeia de restaurantes foi associado ao surto.
   Como você determinaria a fonte da infecção?
5. Os epidemiologistas conduziram um estudo de caso-controle para comparar 53 pacientes com 53 controles saudáveis da mesma localização geográfica. Todas as 106 pessoas preencheram um questionário sobre os alimentos ingeridos. Os dados coletados são apresentados a seguir.

   Risco relativo (RR) é a medida da probabilidade (risco) de um evento resultar em doença. O RR é calculado em uma tabela 2 x 2 (mostrada a seguir). O RR deve ser calculado para cada uma das fontes de exposição. É fornecido o RR para a salada de frango.

Salmonella forma colônias negras no ágar SS devido a sua produção de H_2S, que forma um precipitado negro com o ferro contido no ágar.

Exposição	Exposto		Não exposto		Risco relativo (RR)
	(a) **Doente**	***(b)*** **Não doente**	***(c)*** **Doente**	***(d)*** **Não doente**	
Salada de frango	47	40	6	13	1,71
Repolho	32	20	21	33	
Salada de frutas	34	30	19	23	
Salada de batatas	42	39	11	14	
Salada de tomates	47	24	6	29	

Cálculo do risco relativo utilizando uma tabela 2 x 2

	Doente	Não doente	Risco relativo
Ingeriu ____________	*(a)*	*(b)*	$(e) = \frac{a}{a+b}$
Não ingeriu ____________	*(c)*	*(d)*	$(f) = \frac{c}{c+d}$
Risco relativo	$\frac{e}{f}$ = ____________		= Vezes mais prováveis de se tornar doente indo a este local

Complete os cálculos necessários para determinar a fonte da infecção.

6. Há uma forte associação entre doença e o consumo de tomates romanos. Os tomates implicados tinham sido produzidos na Flórida e fatiados e empacotados em uma empresa em Kentucky.
   Como você poderia saber?
7. Amostras ambientais de fazendas, diques de drenagem de água e fezes de animais fornecem uma variedade de amostras de *Salmonella*.
   Quais fatores podem ter contribuído para os tomates atuarem como um veículo de transmissão?

No oeste dos Estados Unidos, os tomates crescem em habitats naturais para muitos reservatórios conhecidos de salmonela, incluindo aves, anfíbios e répteis. A *Salmonella* pode penetrar no tomateiro através de raízes ou flores e no fruto através de pequenas aberturas na pele e no caule ou pela planta em si. A contaminação pode ocorrer durante diversas etapas, desde os cuidados iniciais com a semente até sua utilização final na cozinha. A erradicação da *Salmonella* do interior do tomate é difícil sem o cozimento, mesmo com o uso de altas concentrações de soluções de cloro.

Fonte: adaptado de *MMWR* 56(35): 909-911, 7 de setembro de 2007.

seguros (embora mais caros), ainda é utilizado mundialmente em áreas endêmicas, porém requer 250 cápsulas durante o curso do tratamento. As drogas antitifoides mais efetivas são as quinolonas ou cefalosporinas de terceira geração. O tratamento do estado de portador requer semanas de antibioticoterapia. Resistência a antibióticos é um problema frequente.

Figura 25.11 ***Vibrio cholerae*****, a causa da cólera.** Observe a morfologia levemente curva.

P Quais os efeitos da perda súbita de fluidos e eletrólitos durante a infecção com *V. cholerae*?

A recuperação da febre tifoide confere imunidade por toda a vida. A imunização normalmente não é feita nos países em desenvolvimento, exceto para pessoas que trabalham em laboratórios, expostas a alto risco, ou militares. O declínio da efetividade dos antibióticos tem renovado o interesse pela vacinação nos países menos desenvolvidos. A vacina que tem sido mais usada é aquela com o patógeno morto, ou inativado, que necessita ser injetada e induz altas taxas de efeitos colaterais. Vacinas de nova geração têm se tornado disponíveis e são bastante seguras, podendo ser utilizadas em crianças a partir dos dois anos de idade. Uma delas, a vacina de subunidades, que requer dose única, confere boa proteção por pelo menos três anos. Outra, a vacina viva atenuada, que pode ser tomada oralmente em três ou quatro doses, protege bem por sete anos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A salmonelose e a febre tifoide são causadas por organismos estreitamente relacionados. Por que a febre tifoide foi completamente eliminada em países desenvolvidos por modernas técnicas de tratamento de resíduos, mas não a salmonelose?

Cólera

O agente causador da **cólera**, uma das mais graves doenças gastrintestinais, é o *Vibrio cholerae*, um bastonete gram-negativo levemente curvo, com um único flagelo polar (**Figura 25.11**). Os bacilos da cólera crescem no intestino delgado e produzem uma exotoxina, a *toxina colérica* (veja o Capítulo 15, página 437), que induz as células do hospedeiro a secretarem água e eletrólitos, especialmente potássio. O resultado são fezes aquosas contendo massas de muco intestinal e células epiteliais – chamadas de "fezes de água de arroz", devido à sua aparência. Em torno de 12 a 20 litros de líquido podem ser perdidos em um dia, e a perda súbita desses líquidos e eletrólitos causa choque, colapso e, frequentemente, morte. Devido à perda de líquido, o sangue torna-se tão viscoso que os órgãos vitais são incapazes de funcionar adequadamente. Vômitos violentos podem ocorrer. Os micróbios não são invasivos, e a febre geralmente não está presente. A gravidade da doença varia consideravelmente, e o número de casos subclínicos pode ser várias vezes maior que o número relatado. Casos não tratados de cólera podem apresentar uma mortalidade de cerca de 50%, embora com o tratamento de suporte adequado normalmente seja menor que 1% nos dias de hoje. O diagnóstico tem como base os sintomas e o isolamento de *V. cholerae* das fezes.

As bactérias que causam a cólera e outros membros do gênero *Vibrio*, em geral, são fortemente associados com águas salobras costeiras, características dos estuários, embora também se espalhem rapidamente em águas frescas contaminadas. Eles formam biofilmes e colonizam copépodes (pequenos crustáceos), algas e outras plantas aquáticas e plânctons, os quais ajudam na sua sobrevivência. Tem sido relatado que, devido aos hábitos de crescimento desses micro-organismos, tecidos com tramas finas (como os sáris usados pelas mulheres indianas) frequentemente removem essas bactérias das águas contaminadas filtradas, tornando a água segura para ser bebida. Sob condições desfavoráveis, *V. cholerae* se tornam dormentes; as células encolhem até um estado esférico não cultivável. Uma mudança favorável no ambiente faz com que revertam rapidamente à forma cultivável. Ambas as formas são infecciosas.

Embora sobrevivam em seus ambientes aquáticos, as bactérias da cólera são excepcionalmente sensíveis aos ácidos estomacais. Pessoas com secreção de ácido estomacal prejudicada ou que estejam tomando antiácidos apresentam alto risco de infecção. Pessoas normais requerem doses infectivas na ordem de 100 milhões de bactérias para que ocorra cólera grave. A recuperação da doença resulta em uma imunidade efetiva, mas somente para amostras bacterianas com as mesmas características antigênicas. O sorogrupo O:1 (veja a nota de rodapé na página 310, Capítulo 11), que causou uma pandemia na década de 1880, é conhecido como a linhagem clássica. Uma pandemia posterior foi causada por uma linhagem do sorogrupo O:1 denominada *El Tor* ou *eltor* (por causa do acampamento de quarentena *El Tor* para peregrinos a Meca, onde foi isolada pela primeira vez). Até a década de 1990, acreditava-se que apenas *V. cholerae* O:1 causasse cólera, mas uma epidemia amplamente disseminada na Índia e em Bangladesh causada por um novo sorogrupo, O:139, mudou essa visão. Existem também amostras não epidêmicas de *V. cholerae*, não O:1/O:139, que algumas vezes são associadas a grandes surtos de cólera, ocasionalmente infectando bordas de feridas ou sepse, em especial em pessoas com doenças do fígado ou que estejam imunossuprimidas.

Nos Estados Unidos, tem havido casos ocasionais de cólera causados pelo sorogrupo O:1, todos na área costeira do Golfo, e o patógeno pode ser endêmico nessas águas costeiras. Os surtos de cólera nesse país são limitados por padrões altos de sanitização, que representa a principal medida de controle e é importante porque as fezes podem conter 100 milhões de *V. cholerae* por grama. Vacinas orais disponíveis fornecem imunidade de curta duração e de eficácia moderada.

O tratamento frequentemente inclui o uso de antibióticos como as doxiciclinas, mas a terapia mais efetiva é a reposição intravenosa de fluidos e eletrólitos perdidos. Em torno de 10% do peso do paciente são requeridos dentro de poucas horas. A terapia de reidratação é tão efetiva que em Bangladesh, por exemplo, onde a cólera é comum, mortes são consideradas incomuns.

Vibriões não coléricos

Ao menos 11 espécies adicionais ao *V. cholerae* podem causar doença em seres humanos. A maioria está adaptada à vida em águas salobras costeiras. O *V. parahaemolyticus* é encontrado em águas salgadas de estuários em muitas partes do mundo. Ele é morfologicamente similar ao *V. cholerae* e é a causa mais comum de gastrenterite por *Vibrio* spp. em seres humanos. A bactéria está presente em águas costeiras dos Estados Unidos e do Havaí. Ostras cruas e crustáceos, assim como camarões e caranguejos, têm sido associados com muitos surtos de *gastrenterite* nos Estados Unidos nos últimos anos.

Os sinais e os sintomas, semelhantes aos da cólera, incluem dor abdominal, vômitos, sensação de queimação no estômago e diarreia aquosa. Tratamento com antibióticos e reidratação com frequência são efetivos. O tempo de incubação normalmente é inferior a 24 horas. A recuperação em geral se segue em poucos dias.

Como o *V. parahaemolyticus* necessita de sódio e uma alta pressão osmótica, os meios de isolamento contendo cloreto de sódio a 2 a 4% são usados para diagnosticar a doença.

Outro vibrião importante é o *Vibrio vulnificus*, que também é encontrado em estuários. Ele é halofílico e requer cloreto de sódio a 1% no meio usado para isolá-lo. Geralmente causa gastrenterite em uma minoria das infecções; além disso, sua ingestão pode levar a uma invasão da corrente sanguínea potencialmente fatal. Pessoas com o sistema imune comprometido estão em alto risco. Qualquer pessoa sofrendo de doença hepática também está em alto risco de sepse, que é fatal em cerca de 50% dos casos. *V. vulnificus* frequentemente causa infecções bastante perigosas a partir de pequenas lesões na pele ocorridas em águas marinhas costeiras. A rápida disseminação da destruição de tecidos por causa dessas infecções pode exigir a amputação do membro afetado, e, se houver sepse, a taxa de fatalidade é de cerca de 25%. Uma vez que estas infecções são potencialmente fatais, elas requerem antibioticoterapia precoce para o sucesso do tratamento.

Gastrenterite por *Escherichia coli*

Um dos micro-organismos mais prolíficos no trato intestinal dos seres humanos é a *E. coli*. Por ser tão comum e tão facilmente cultivada, os microbiologistas com frequência a encaram como um tipo de animal de estimação do laboratório. Essas *E. coli* normalmente são inofensivas, mas certas linhagens podem ser patogênicas. Todas as linhagens patogênicas possuem fímbrias especializadas que permitem que elas se liguem a certas células do epitélio intestinal. Elas também produzem toxinas que causam distúrbios gastrintestinais, denominados coletivamente *gastrenterite por E. coli*.

Diarreia dos viajantes

Há um antigo ditado que diz que os viajantes tendem a "expandir a mente e relaxar os intestinos", o que mais tarde se torna uma condição conhecida como **diarreia dos viajantes**. A causa provável da maioria dos casos é uma das muitas linhagens de *E. coli*. A ***E. coli* enterotoxigênica (ETEC,** de *enterotoxigenio E. coli*) é não invasiva, mas produz uma enterotoxina que causa uma diarreia aquosa que lembra um caso leve de cólera. Outra linhagem que é cada vez mais reconhecida como causa da diarreia do viajante, possivelmente a segunda causa depois da ETEC, é a ***E. coli* enteroagregativa (EAEC,** de *enteroaggregative E. coli*). Este grupo de coliformes é assim denominado por uma forma de crescimento na qual as bactérias aderem-se umas às outras em uma configuração de "tijolos empilhados". A ***E. coli* enteroinvasiva (EIEC,** de *enteroinvasive E. coli*) invade a parede intestinal resultando em inflamação, febre e, algumas vezes, uma disenteria parecida com a causada pela *Shigella*.

A diarreia dos viajantes também pode ser causada por patógenos gastrentéricos como *Salmonella* e *Campylobacter* – bem como por vários patógenos bacterianos não identificados, vírus e parasitas protozoários. Na verdade, na maioria das vezes, o agente causal nunca é identificado. A diarreia dos viajantes geralmente é autolimitada, e com frequência não se faz uma tentativa com quimioterapia. Uma vez que seja contraída, o melhor tratamento é a reidratação oral recomendada para todas as diarreias. Em casos graves, drogas antimicrobianas podem ser necessárias. Para prevenir a diarreia dos viajantes, relatos têm demonstrado certo efeito protetor dos antibióticos prescritos. Outra opção é tomar preparados contendo bismuto, como Pepto-Bismol (duas pastilhas, quatro vezes ao dia), se a pessoa não se importar com a língua e as fezes temporariamente pretas. Contudo, o melhor conselho em áreas de risco é prevenir a infecção, como no ditado que diz: "fervendo, descascando ou não comendo".

Escherichia coli produtoras de toxina Shiga

Recentemente, as linhagens de ***E. coli* entero-hemorrágicas** tornaram-se conhecidas nos Estados Unidos como causa de vários surtos de doença grave. O principal fator de virulência destas bactérias é a produção da toxina Shiga (veja a página 712), e algumas vezes elas são denominadas **toxina Shiga de *Escherichia coli* (STEC,** de *Shiga-toxin E. coli*) (taxonomistas consideram a *E. coli* indistinguível dos membros do gênero *Shigella*). Outro fator de virulência é sua capacidade de se aderir à mucosa intestinal. As bactérias destroem as microvilosidades e induzem a formação de projeções semelhantes a pedestais, onde se alojam (**Figura 25.12**). Nos Estados Unidos, o sorotipo usualmente isolado é o O157:H7 (veja a nota de rodapé na página 310, Capítulo 11, para uma explicação dessa nomenclatura), mas outros sorotipos podem predominar em outros lugares do mundo. A criação de gado se tornou extremamente industrializada, e rebanhos de gado de corte têm sido alimentados com rações de grão mais que com pastagens. O resultado é que esta dieta afeta o pH do rúmen e promove a colonização do animal com STEC, relativamente ácido-resistentes. Cerca de 2 a 3% do gado doméstico carreia STEC, que contamina carcaças em frigoríficos (os animais não sofrem de nenhum sintoma óbvio). Além disso, grandes quantidades de esterco de rebanhos de corte tendem a contaminar fontes de água de irrigação e, em consequência, folhagens vegetais que são ingeridas cruas.

Figura 25.12 ***E. coli*** **entero-hemorrágica (EHEC) O157:H7.** As bactérias EHEC (em roxo) aderem-se à parede epitelial, destruindo a superfície das microvilosidades e causando a formação de projeções semelhantes a pedestais (em amarelo) sobre as quais elas se apoiam. A função destas estruturas ricas em actina ainda não está elucidada, mas elas facilitam a disseminação das bactérias para as células adjacentes.

P **A adesão é um fator de patogenicidade de um micróbio?**

O Departamento de Agricultura Norte-Americano descobriu que cerca de 90% da carne moída está contaminada, embora geralmente em baixos níveis. Essas carnes, se não forem bem cozidas, são uma fonte potencial de infecção. A carne de aves e de outros animais e folhagens vegetais também podem estar contaminadas. Alimentos ingeridos não são a única fonte de infecção; alguns casos têm sido associados com a visita de crianças a fazendas e zoológicos. Estima-se que a dosagem infectiva seja bem pequena, provavelmente muito menor que 100 bactérias.

Em seres humanos, as toxinas Shiga frequentemente causam somente uma diarreia autolimitada, mas em cerca de 6% das pessoas infectadas ela produz uma inflamação do colo (o intestino grosso acima do reto) com sangramento profuso, chamada de *colite hemorrágica*. Diferente da *Shigella* (veja a Figura 25.8), estas *E. coli* não invadem a parede intestinal, mas liberam a toxina no lúmen intestinal.

Outra complicação perigosa é a *síndrome hemolítico-urêmica* (HUS, de *Hemolytic Uremic Syndrome*) caracterizada por sangue na urina, frequentemente levando à insuficiência renal; a HUS ocorre quando os rins são afetados pela toxina. Cerca de 5 a 10% das crianças pequenas que foram infectadas progridem para esse estágio, que tem uma taxa de mortalidade de cerca de 5%. Os cuidados destes pacientes envolvem principalmente a reidratação intravenosa e o monitoramento cuidadoso dos eletrólitos séricos. Entre os sobreviventes da HUS, alguns podem necessitar de diálise renal ou mesmo de transplantes. Estima-se que 200 a 500 óbitos ocorram anualmente.

Devido à atenção que esse patógeno tem atraído, os pesquisadores vêm trabalhando, com certo sucesso, no desenvolvimento de métodos rápidos para sua detecção em alimentos, sem a necessidade de utilizar métodos de cultura muito demorados. Tem sido recomendado que laboratórios de saúde pública testem rotineiramente para STEC O157. Um método-padrão é utilizar meios que diferenciam essas bactérias de acordo com sua incapacidade de fermentar o sorbitol. Qualquer colônia sorbitol-negativa deve subsequentemente ser testada por um processo denominado *eletroforese de campo pulsado* (*PFGE,* de *pulsed-field gel electrophoresis*), uma técnica que subtipa bactérias. Nos Estados Unidos, os dados são adicionados a uma plataforma de banco de dados nacional denominada *PulseNet database*, onde as informações epidemiológicas podem ser comparadas.

Gastrenterite por *Campylobacter*

Campylobacter são bactérias gram-negativas, microaerófilas, curvadas em espiral, que emergiram como a principal causa de doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos. Elas se adaptam bem ao ambiente intestinal de hospedeiros animais, especialmente de aves. A cultura de *Campylobacter* requer condições de baixo teor de oxigênio e alto teor de dióxido de carbono desenvolvido em sistemas especiais. Sua temperatura de crescimento ótimo de cerca de 42°C é próxima da de seus hospedeiros animais, mas a bactéria não se multiplica em alimentos. Quase todos os frangos à venda em varejos estão contaminados com *Campylobacter*. Além disso, cerca 60% do gado excreta o organismo nas fezes e no leite, mas a carne vermelha à venda tem menos probabilidade de estar contaminada.

Estima-se que ocorram mais de dois milhões de casos de **gastrenterite por *Campylobacter*** nos Estados Unidos a cada ano, causadas geralmente por *C. jejuni*. A dose infectiva é menor que um milhão de bactérias. Clinicamente, ela é caracterizada por febre, cólica abdominal e diarreia ou disenteria. Normalmente, a recuperação ocorre dentro de uma semana.

Uma complicação rara da infecção por *Campylobacter* é que ela está ligada, em um a cada mil casos, à doença neurológica denominada síndrome de Guillain-Barré, uma paralisia temporária. Aparentemente, uma molécula de superfície das bactérias assemelha-se a um componente lipídico do tecido nervoso e provoca um ataque autoimune.

Úlcera péptica por *Helicobacter*

Em 1982, um médico na Austrália cultivou uma bactéria espiralada, microaerófila, observada no tecido biopsiado de pacientes com úlceras de estômago. Hoje chamada de *Helicobacter pylori*, é amplamente aceito que seja responsável pela maioria dos casos de **úlcera péptica**. Essa síndrome inclui úlceras gástricas e duodenais (o duodeno é a primeira porção do intestino delgado). Cerca de 30 a 50% da população nos países desenvolvidos se tornam infectados; a taxa de infecção é maior em outros lugares. Apenas cerca de 15% dos infectados desenvolvem úlcera, portanto certos fatores do hospedeiro provavelmente estão envolvidos. Por exemplo, pessoas com o tipo sanguíneo O são mais suscetíveis, o que também é verdadeiro para a cólera (veja a página 526). O *H. pylori* também é

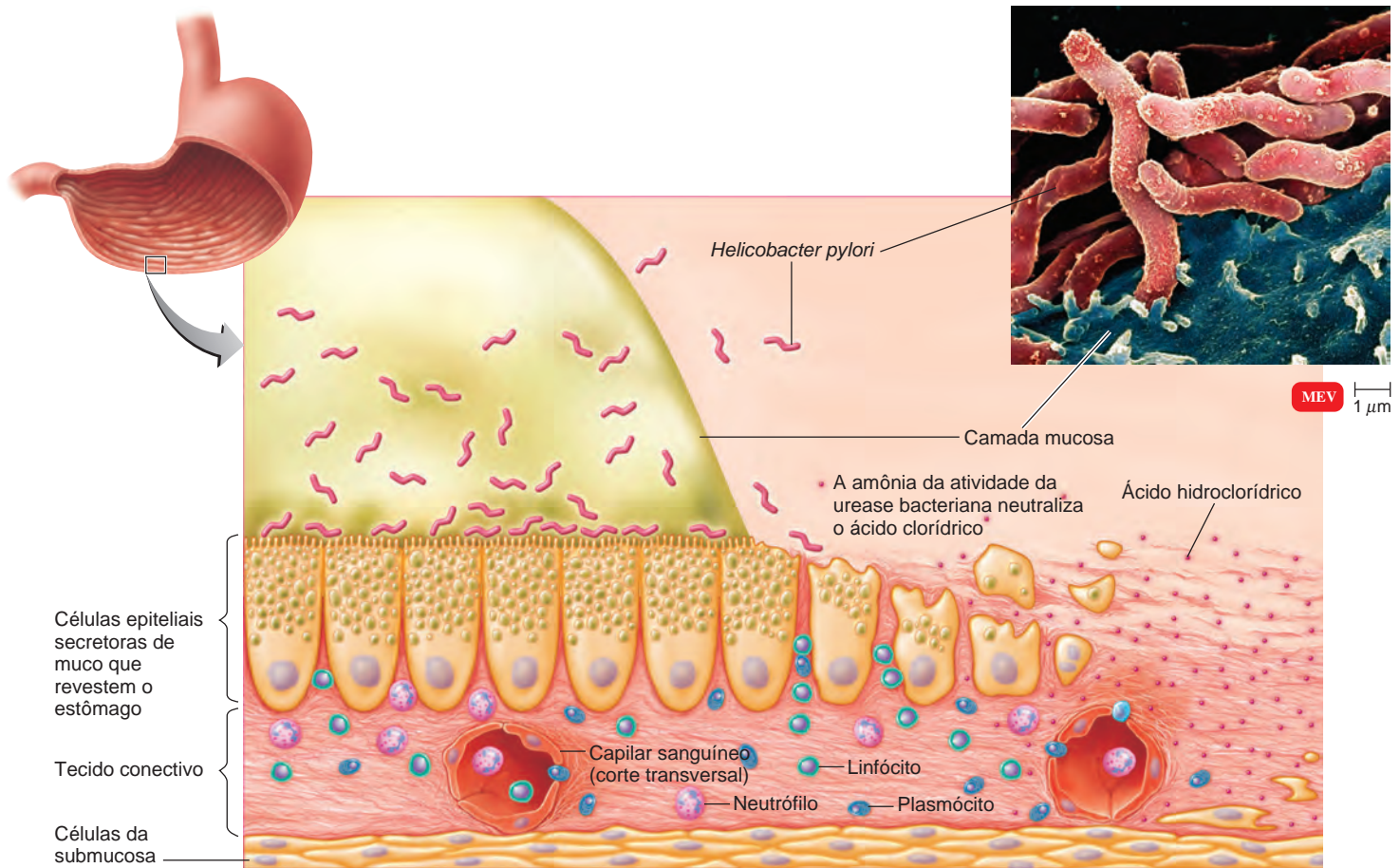



Figura 25.13 **Infecção por *Helicobacter pylori*, levando à ulceração da parede do estômago.**

P Como a enzima urease forma amônia? (*Dica*: Observe a fórmula química da ureia.)

considerado uma bactéria carcinogênica. O câncer gástrico se desenvolve em cerca de 3% das pessoas infectadas com essas bactérias, mas pessoas não infectadas não desenvolvem o câncer.

A mucosa do estômago contém células que secretam suco gástrico contendo enzimas proteolíticas e ácido clorídrico, que ativa essas enzimas. Outras células especializadas produzem uma camada de muco que protege o próprio estômago da digestão. Se essa defesa é rompida, uma inflamação do estômago (gastrite) ocorre. Essa inflamação pode então progredir para uma área ulcerada (**Figura 25.13**). Por meio de uma interessante adaptação, o *H. pylori* pode crescer no ambiente altamente ácido do estômago, que é letal para a maioria dos micro-organismos. *H. pylori* produz grandes quantidades de uma urease especialmente eficiente, uma enzima que converte a ureia no composto alcalino amônia, resultando em um pH localmente elevado na área de crescimento.

A erradicação do *H. pylori* com drogas antimicrobianas geralmente leva ao desaparecimento das úlceras pépticas. Vários antibióticos, geralmente administrados em combinação, demonstraram ser efetivos. O subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol) também é efetivo, sendo frequentemente parte do regime medicamentoso. Quando as bactérias são eliminadas com sucesso, a taxa de recorrência da úlcera é de apenas 2 a 4% por ano. A reinfecção pode ocorrer a partir de várias fontes ambientais, mas é menos provável em áreas com altos padrões de higiene; na verdade, existem evidências de que a infecção por *H. pylori* esteja desaparecendo lentamente nos países desenvolvidos.

Os testes diagnósticos mais confiáveis requerem a biópsia de um tecido e a cultura do organismo. Uma abordagem diagnóstica interessante é o teste de depuração respiratória da ureia. O paciente deglute ureia marcada radioativamente e, se o teste for positivo,

cerca de 30 minutos depois, CO_2 marcado radiativamente pode ser detectado no hálito. Esse teste é bastante útil para determinar a eficácia da quimioterapia, pois um teste positivo é uma indicação da presença de *H. pylori* vivo. Testes diagnósticos de fezes para detectar antígenos (e não anticorpos) para *H. pylori* são adequados para testes de acompanhamento após a terapia. Eles são os testes não invasivos de escolha, especialmente para crianças. Testes sorológicos para detectar os anticorpos são de baixo custo, mas menos específicos na determinação da erradicação.

Gastrenterite por *Yersinia*

Outros patógenos entéricos que estão sendo identificados com frequência cada vez maior são *Yersinia enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis*. Essas bactérias gram-negativas são habitantes do intestino de muitos animais domésticos e frequentemente são transmitidas na carne e no leite. Ambos os micróbios apresentam a capacidade de crescer em temperaturas de 4°C em refrigeradores. *Yersinia* tem sido ocasionalmente responsável por reações graves quando contamina sangue de transfusão. Sua habilidade de crescer em baixas temperaturas aumenta seu número em sangue armazenado sob refrigeração até que suas endotoxinas possam resultar em choque para o receptor do sangue.

Esses patógenos causam **gastrenterite por *Yersinia***, ou **yersiniose**. Os sintomas são diarreia, febre, cefaleia e dor abdominal. A dor frequentemente é intensa o suficiente para causar um diagnóstico errôneo de apendicite. O diagnóstico requer a cultura do organismo, que pode então ser avaliado por testes sorológicos. Adultos sofrendo de yersiniose geralmente recuperam-se em 1 a 2 semanas; crianças podem requerer um tempo maior para recuperação. Tratamentos com antibióticos e reidratação oral são úteis.

Gastrenterite por *Clostridium perfringens*

Uma das formas mais comuns de intoxicação alimentar nos Estados Unidos, embora pouco reconhecida, é causada por *Clostridium perfringens*, um bastonete grande, gram-positivo, formador de endosporos e anaeróbico obrigatório. Essa bactéria também é responsável pela gangrena gasosa humana (veja o Capítulo 23, página 646).

A maioria dos surtos de **gastrenterite por *C. perfringens*** está associada com carnes ou ensopados de carne contaminados com conteúdo intestinal do animal durante o abate. O requerimento nutricional de aminoácidos do patógeno é atendido por esses alimentos e, quando a carne é cozida, o nível de oxigênio é reduzido o suficiente para o crescimento clostridial. Os endosporos sobrevivem à maioria dos aquecimentos de rotina, e o tempo de geração da bactéria vegetativa é de menos de 20 minutos sob condições ideais. Assim, grandes populações podem se acumular rapidamente quando os alimentos estão sendo guardados até a hora de servir, ou quando a refrigeração inadequada leva ao resfriamento lento.

O micróbio cresce no trato intestinal e produz uma exotoxina que causa os sintomas típicos de dor abdominal e diarreia. A maioria dos casos é leve e autolimitada e provavelmente nunca é clinicamente diagnosticada. Os sintomas geralmente surgem de 8 a 12 horas após a ingestão. O diagnóstico com frequência tem como base o isolamento e a identificação do patógeno em amostras de fezes.

Diarreia associada ao *Clostridium difficile*

A cada ano nos Estados Unidos ocorrem milhões de casos de diarreia associada à infecção por *Clostridium difficile*, uma bactéria gram-positiva formadora de endosporos. Este micro-organismo é encontrado em fezes de muitos adultos saudáveis. **Diarreia associada ao *Clostridium difficile*** ocorre em sua maioria em hospitais e casas de saúde, onde as bactérias ou seus endosporos são contaminantes do ambiente. A condição é comumente precipitada pelo uso intensivo de antibióticos de amplo espectro. A eliminação da maioria das bactérias competidoras do intestino permite a rápida proliferação do *C. difficile* produtor de toxina. Há evidências de que as amostras encontradas nestes surtos são mais virulentas que o normal. Entretanto, essas mesmas bactérias causam surtos em crianças de creches que não estão correlacionados ao uso de antibióticos. Tem sido relatado que cuidadores podem adquirir a bactéria dos pacientes. Essa infecção pode ser grave, sendo que a taxa de mortalidade, que é mais alta em pacientes idosos, atinge 1 a 2,5%.

A doença manifesta-se em sintomas que variam de casos brandos de diarreia até colite (inflamação do colo) que são potencialmente letais. A colite pode resultar em ulceração na parede intestinal.

Um diagnóstico de diarreia associada ao *Clostridium difficile* frequentemente é sugerido por um histórico do uso de antibióticos. Isso pode ser confirmado por um ensaio imunoenzimático que detecta a exotoxina responsável pelo quadro. Um teste mais confiável, mas difícil de ser realizado e que leva cerca de 48 horas para a liberação do resultado, é o ensaio de citotoxicidade. O tratamento requer a descontinuação do antibiótico que induz o quadro e a realização de terapia de reidratação oral. Metronidazol, uma droga que tem como alvo o metabolismo de anaeróbicos, também é parte comum da terapia. Normalmente, nenhum tratamento antimicrobiano, incluindo a vancomicina, impede a recorrência. Em casos excepcionais, enemas contendo fezes humanas são utilizados na tentativa de restabelecer a microbiota normal.

Gastrenterite por *Bacillus cereus*

Bacillus cereus é uma bactéria grande, gram-positiva, formadora de endosporos, muito comum no solo e na vegetação e geralmente considerada inofensiva. Contudo, ela foi identificada como causa de surtos de doenças transmitidas por alimentos. Aquecer o alimento nem sempre mata os esporos, que germinam à medida que o alimento esfria. Uma vez que os micróbios competidores foram eliminados no alimento cozido, *B. cereus* cresce rapidamente e produz toxinas. Os pratos de arroz servidos em restaurantes asiáticos parecem especialmente suscetíveis.

Alguns casos de **gastrenterite por *B. cereus*** lembram as intoxicações por *C. perfringens* e são quase totalmente de natureza diarreica (geralmente 8 a 16 horas após a ingestão). Outros episódios envolvem náuseas e vômitos (geralmente 2 a 5 horas após a ingestão). Suspeita-se de que diferentes toxinas estejam envolvidas na produção dos diferentes sintomas. Ambas as formas da doença são autolimitadas. As doenças podem ser diferenciadas pelo isolamento de pelo menos 10^5 *B. cereus* por grama de alimentos suspeitos.

As doenças bacterianas do trato GI estão resumidas em Doenças em Foco 25.2.

Doenças virais do sistema digestório

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

25-5 Listar os agentes causais, o modo de transmissão, os sítios de infecção e os sintomas da caxumba.

25-6 Diferenciar hepatite A, hepatite B, hepatite C, hepatite D e hepatite E.

25-7 Listar os agentes causais, o modo de transmissão e os sintomas das gastrenterites virais.

Embora os vírus não se reproduzam dentro do conteúdo do sistema digestório como as bactérias, eles invadem muitos órgãos associados ao sistema.

Caxumba

Os alvos do vírus da caxumba, as glândulas parótidas, estão localizados logo abaixo e na frente das orelhas (veja a Figura 25.1). Uma vez que as parótidas são um dos três pares de glândulas salivares do sistema digestório, é apropriado incluir uma discussão da caxumba neste capítulo.

A **caxumba** tipicamente inicia com um edema doloroso de uma ou ambas as glândulas parótidas, 16 a 18 dias após a exposição ao vírus (**Figura 25.14**). O vírus é transmitido na saliva e em secreções respiratórias e sua porta de entrada é o trato respiratório. Uma pessoa infectada é mais infecciosa para as outras pessoas durante as primeiras 48 horas antes do surgimento dos sintomas clínicos. Uma vez que o vírus comece a se multiplicar no trato respiratório e nos linfonodos locais do pescoço, ele atinge as glândulas salivares via sangue. A viremia (a presença de vírus no sangue) começa vários dias antes do início dos sintomas da caxumba e antes do aparecimento do vírus na saliva. O vírus está presente no sangue e na saliva por 3 a 5 dias após o início da doença e na urina após cerca de 10 dias.

A caxumba é caracterizada por inflamação e edema das glândulas parótidas, febre e dor durante a deglutição. Cerca de 4 a 7 dias após o início dos sintomas, os testículos podem se tornar inflamados, uma condição denominada *orquite*. Isso ocorre em cerca de 20 a 40% dos homens após a puberdade. A esterilidade é uma consequência possível, mas rara. Outras possíveis complicações incluem meningite, inflamação dos ovários e pancreatite.

Uma vacina viva atenuada efetiva está disponível e frequentemente é administrada como parte da vacina trivalente para o sarampo, a caxumba e a rubéola (MMR, de *measles, mumps, rubella*). Uma segunda infecção é rara e, quando ocorre, atinge somente uma glândula parótida ou induz casos subclínicos (cerca de 15 a 20% dos infectados), que são tão efetivos quantos os casos clínicos de caxumba bilateral em conferir imunidade.

Se a confirmação de um diagnóstico com base somente nos sintomas é desejada, o vírus pode ser isolado por ovos embrionados ou cultura de células e identificado por testes de ELISA.

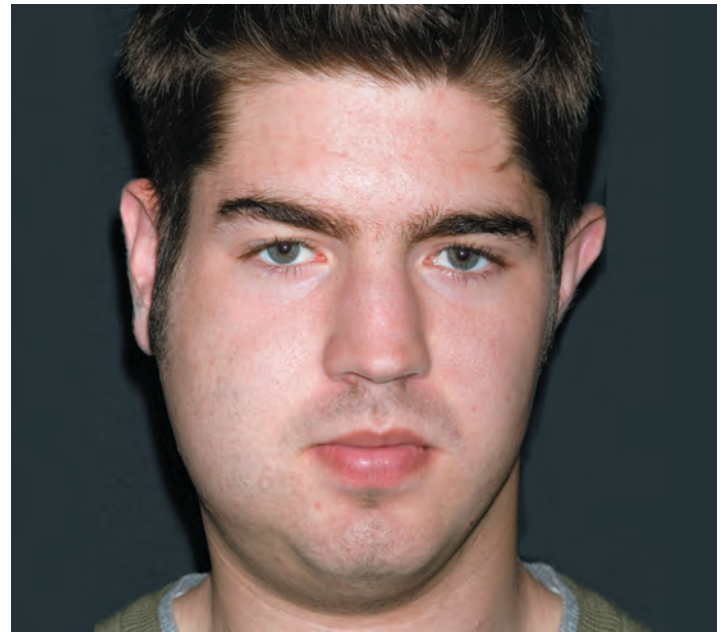



Figura 25.14 **Um caso de caxumba.** Este paciente mostra o edema típico da caxumba.

P **Como o vírus da caxumba é transmitido?**

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que a caxumba é considerada uma doença do sistema digestório? **25-5**

Hepatite

A **hepatite** é uma inflamação do fígado. Ao menos cinco diferentes vírus causam a hepatite, e provalmente outros serão descobertos ou se tornarão melhor conhecidos. A hepatite é também um resultado da infecção ocasional por outros vírus como o vírus Epstein-Barr (EBV) ou o citomegalovírus (CMV). Drogas e citotoxicidade química também podem causar hepatite aguda, que é clinicamente idêntica à hepatite viral. As características de várias formas de hepatite viral estão resumidas em Doenças em Foco 25.3, na página 724.

Hepatite A

O *vírus da hepatite A* (HAV, de *Hepatitis A virus*) é o agente causal da **hepatite A**. O vírus contém RNA de fita simples e não possui envelope. Ele pode ser cultivado em cultura de células.

Após uma entrada típica por via oral, o HAV se multiplica no revestimento epitelial do trato intestinal. A viremia ocorre ocasionalmente, e o vírus se dissemina para o fígado, os rins e o baço.

O vírus se dissemina nas fezes e também pode ser detectado no sangue e na urina. A quantidade de vírus excretado é maior antes dos sintomas surgirem e então diminui rapidamente. Assim, um

DOENÇAS EM FOCO 25.2

As tartarugas de faces rosadas deveriam ter mais de 10 cm para que as crianças não as colocassem na boca.

Doenças bacterianas do sistema digestório inferior

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os testes laboratoriais. Gastrenterite é a doença mais comum no mundo. As causas incluem bactérias, vírus e protozoários transmitidos por alimentos e água contaminados. A condição é comumente tratada com reposição dos fluidos e eletrólitos perdidos. Por exemplo, um garoto de oito anos teve diarreia, resfriado, febre (39,3°C), cólicas abdominais e vômitos por três dias. No mês seguinte, seu irmão de 12 anos apresentou os mesmos sintomas. Duas semanas antes do primeiro paciente ficar doente, a família tinha comprado uma pequena tartaruga de faces rosadas (<10 cm). Utilize a tabela abaixo e as informações das páginas 710 a 720 para identificar as infecções que poderiam causar estes sintomas.

Doença	Patógeno	Sintomas	Intoxicação/ infecção	Teste diagnóstico	Tratamento
Intoxicação alimentar estafilocócica	*Staphylococcus aureus*	Náusea, vômito e diarreia	Intoxicação (enterotoxina)	Fagotipagem	Nenhum
Shigelose (disenteria bacilar)	*Shigella* spp.	Dano tecidual e disenteria	Infecção (endotoxina e toxina Shiga, exotoxina)	Isolamento das bactérias em meio seletivo	Quinolonas
Salmonelose	*Samonella enterica*	Náusea e diarreia	Infecção (endotoxina)	Isolamento das bactérias em meio seletivo, sorotipagem	Reidratação oral
Febre tifoide	*Salmonella tiphy*	Febre alta, mortalidade significante	Infecção (endotoxina)	Isolamento das bactérias em meio seletivo, sorotipagem	Quinolonas; cefalosporinas
Cólera	*Vibrio cholerae* O:1 e O:139	Diarreia com grande perda de água	Toxina colérica (exotoxina)	Isolamento das bactérias em meio seletivo	Reidratação; doxiciclina
Gastrenterite por *Vibrio parahaemolyticus*	*V. parahaemolyticus*	Diarreia tipo cólera, mas geralmente branda	Infecção, enterotoxina	Isolamento das bactérias em 2 a 4% de NaCl	Reidratação; antibióticos

trabalhador que manuseia alimentos, responsável por disseminar o vírus, pode não parecer doente naquele momento. O vírus provavelmente pode sobreviver por vários dias em superfícies como tábuas de corte. A contaminação da comida ou da bebida pelas fezes é auxiliada pela resistência do HAV aos desinfetantes clorados nas concentrações comumente usadas na água. Os moluscos, como as ostras que vivem em águas contaminadas, também são uma fonte de infecção.

Pelo menos 50% das infecções com HAV são subclínicas, especialmente em crianças. Nos casos clínicos, os sintomas iniciais são anorexia (perda de apetite), mal-estar, náuseas, diarreia, desconforto abdominal, febre e calafrios. Esses sintomas mais provavelmente surgem em adultos, durando de 2 a 21 dias, e a taxa de mortalidade é baixa. Epidemias por todos os Estados Unidos ocorrem a cada 10 anos, principalmente em pessoas com menos de 14 anos. Em alguns casos também há icterícia (os sinais são cor amarelada da pele e do branco dos olhos) e urina escura típica das infecções do fígado. Nesses casos, o fígado torna-se sensível e aumentado.

Não existe forma crônica da hepatite A, e o vírus geralmente se dissemina somente durante o estágio agudo da doença. O período de incubação dura em média 4 semanas e varia de 2 a 6 semanas, o que dificulta os estudos epidemiológicos para a fonte das infecções. Não há reservatórios animais.

Nos Estados Unidos, a porcentagem da população que se torna infectada com HAV é muito maior entre os grupos socioeconômicos pobres (72 a 88%) do que entre os grupos sócioeconômicos médio e rico (18 a 30%). Os 30 mil ou mais casos relatados nos Estados Unidos a cada ano representam somente uma fração do número real.

A doença aguda é diagnosticada pela detecção de IgM anti-HAV, pois esses anticorpos surgem cerca de 4 semanas após a in-

Doença	Patógeno	Sintomas	Intoxicação/ infecção	Teste diagnóstico	Tratamento
Gastrenterite pro *V. vulnificus*	*V. vulnificus*	Destruição tecidual com disseminação rápida	Infecção	Isolamento das bactérias em 1% de NaCl	Antibióticos
Diarreia dos viajantes	*Escherichia coli* enterotoxigênica, enteroinvasiva	Diarreia aquosa	Infecção (endotoxina)	Isolamento das bactérias em meio seletivo	Reidratação oral
***Escherichia coli* produtora de toxina Shiga**	*E. coli* O157:H7	Disenteria do tipo *Shigella*; colite hemorrágica (fezes com muito sangue) e síndrome hemolítico-urêmica (sangue na urina, possível insuficiência renal)	Infecção, toxina Shiga (exotoxina)	Isolamento, fermentação do sorbitol	Reidratação intravenosa e monitoramento de eletrólitos no soro
Gastrenterite por *Campylobacter*	*Campylobacter jejuni*	Febre, dor abdominal, diarreia	Infecção	Isolamento em baixa tensão de O_2 e alta tensão de CO_2	Nenhum
Úlcera péptica por *Helicobacter*	*Helicobacter pylori*	Úlcera péptica	Infecção	Teste do hálito da ureia; cultura bacteriana	Drogas antimicrobianas
Gastrenterite por *Yersinia*	*Yersinia enterocolitica*	Dor abdominal e diarreia, normalmente branda; pode ser confundida com apendicite	Infecção (endotoxina)	Cultura, sorotipagem	Reidratação oral
Gastrenterite por *Clostridium perfringens*	*Clostridium perfringens*	Normalmente limitada à diarreia	Infecção (exotoxina)	Isolamento de bactérias	Reidratação oral
Diarreia associado ao *Clostridium difficile*	*Clostridium difficile*	Diarreia branda à colite, 1 a 25% de mortalidade	Infecção (exotoxina)	Ensaio de citotoxicidade	Metronidazol, vancomicina
Gastrenterite por *Bacillus cereus*	*Bacillus cereus*	Pode apresentar a forma de diarreia ou náusea e vômito	Intoxicação	Isolamento de ≥ IO^s *B. cereus*/g de fezes	Nenhum

fecção e desaparecem cerca de 3 a 4 meses após a infecção. A recuperação resulta em imunidade por toda a vida.

Não há tratamento específico para a doença, mas as pessoas em risco de exposição para a hepatite A podem receber imunoglobulina, que fornece proteção por vários meses. Vacinas inativadas estão disponíveis atualmente e são recomendadas para pessoas que viajarão para áreas de doença endêmica e para grupos de alto risco como homossexuais masculinos e usuários de drogas injetáveis. A vacinação para HAV é agora parte do calendário recomendado de vacinação infantil.

Hepatite B

A **hepatite B** é causada pelo *vírus da hepatite B* (*HBV*, de *Hepatitis B virus*). O HBV e o HAV são vírus completamente diferentes: o HBV é maior; seu genoma é de DNA de fita dupla e é envelopado. O HBV é um vírus DNA único; em vez de replicar seu DNA diretamente, ele passa por um estágio intermediário de RNA, lembrando um retrovírus. Uma vez que o HBV frequentemente é transmitido por transfusões de sangue, esse vírus tem sido intensamente estudado de modo a determinar como identificar o sangue contaminado.

O soro de pacientes com hepatite B contém três partículas distintas (**Figura 25.15**). A maior, a *partícula de Dane*, é o vírion completo, infeccioso e capaz de se replicar. Também há *partículas esféricas* menores, com cerca de metade do tamanho da partícula de Dane, e *partículas filamentosas*, que são estruturas tubulares de diâmetro similar às partículas esféricas, mas com comprimento dez vezes maior. As partículas esféricas e filamentosas são componentes desmontados das partículas de Dane, sem ácidos nucleicos; a montagem evidentemente não é muito eficiente, e grande parte desses componentes desmontados se acumula. Felizmente, essas numerosas partículas desmontadas contêm *antígeno de superfície do vírus*

DOENÇAS EM FOCO 25.3

Fígado saudável.

Fígado lesionado pelo vírus da hepatite C.

Características das hepatites virais

A hepatite é uma inflamação do fígado. Ela pode ser uma doença aguda com icterícia ou aminotransferases séricas elevadas. As aminotransferases são enzimas encontradas nas células do fígado e liberadas quando essas células são danificadas. A hepatite crônica pode ser assintomática, ou há evidência de doença do fígado (incluindo cirrose ou câncer de fígado). A hepatite pode ser causada por uma variedade de vírus, álcool ou drogas; entretanto, ela é mais frequentemente causada por um dos vírus da tabela abaixo. Por exemplo, após comerem em um restaurante, 355 pessoas foram diagnosticadas com o mesmo vírus de hepatite. Use a tabela abaixo para determinar quais vírus são as possíveis causas desta infecção.

Doença	Patógeno	Sintomas	Período de incubação	Métodos de transmissão	Teste diagnóstico	Prevalência de anticorpos nos EUA	Vacina
Hepatite A	Vírus da hepatite A, *Picornaviridae*	Maioria subclínica; febre, dores de cabeça; mal-estar, casos graves de icterícia; sem doença crônica	2 a 6 semanas	Ingestão	Anticorpos IgM	33%	Vírus inativado; imunoglobulina pós-exposição
Hepatite B	Vírus da hepatite B, *Hepadnaviridae*	Frequentemente subclínica; similar ao HAV, porém sem dores de cabeça; mais provavelmente progressão para dano grave do fígado; ocorrência de doença crônica	4 a 26 semanas	Parenteral; contato sexual	Anticorpos IgM	5 a 10%	Vacina geneticamente modificada produzida em levedura
Hepatite C	Vírus da hepatite C, *Flaviviridae*	Similar ao HBV, mais provável de se tornar crônica	2 a 22 semanas	Parenteral	PCR para RNA viral (RT-PCR)	1,8%	Nenhuma
Hepatite D	Vírus da hepatite, gênero *Deltaviridae*	Dano grave do fígado; alta taxa de mortalidade; doença crônica pode ocorrer	6 a 26 semanas	Parenteral; requer coinfecção com o vírus da hepatite B	Anticorpos IgM	Desconhecida	Vacina para HBV induz imunidade protetora
Hepatite E	Vírus da hepatite E, *Caliciviridae*	Similar ao HAV, mas mulheres grávidas podem apresentar alta mortalidade; sem doença crônica	2 a 6 semanas	Ingestão	Anticorpos IgM, PCR para RNA viral (RT-PCR)	0,5%	Vacina para HAV induz imunidade protetora

da hepatite B (*HBsAg*), que pode ser detectado com anticorpos anti-HBsAg. Esses testes de anticorpo possibilitam a triagem conveniente do sangue para o HBV.

Médicos, enfermeiras, dentistas, técnicos da área médica e outros que estão em contato diário com sangue têm uma incidência consideravelmente maior de hepatite B que os membros da população geral. Estima-se que até 10 mil trabalhadores da saúde sejam infectados por ano nos Estados Unidos. Os regulamentos federais requerem que os empregados expostos ao sangue recebam vacinações gratuitas de seus empregadores. Também tem havido casos de transmissão aos pacientes por cirurgiões e dentistas. É seguro utilizar seringas e agulhas descartáveis para cada paciente. Os usuários de drogas injetáveis frequentemente compartilham agulhas e não as esterilizam corretamente; como consequência, eles também têm uma alta incidência de hepatite B. O sangue pode conter até um bilhão de vírus por mililitro. Portanto, não é de se surpreender que também esteja presente em tantos líquidos corporais, como a saliva, o leite materno e o sêmen, mas não em fezes ou urina livres de

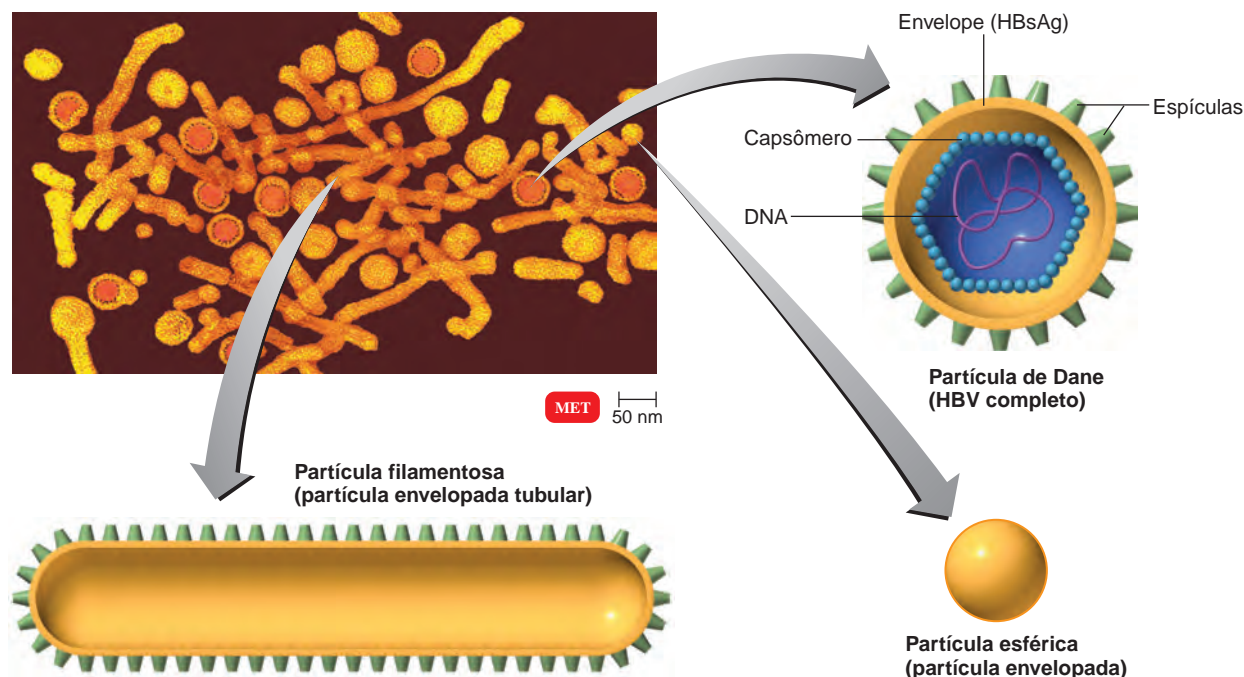



Figura 25.15 **Vírus da hepatite B (HBV).** A micrografia e as ilustrações mostram os tipos distintos de partículas de HBV discutidos no texto.

P **Quais são as outras causas de hepatites virais?**

sangue. A transmissão pelo sêmen doado para inseminação artificial tem sido documentada, e o sêmen foi implicado na transmissão entre heterossexuais com múltiplos parceiros e em homossexuais do sexo masculino. As medidas tomadas para impedir a transmissão de HIV também tiveram efeito na incidência da transmissão de HBV. Uma mãe positiva para o HBsAg, especialmente se for uma portadora crônica, pode transmitir a doença a seu lactente, geralmente no parto. Na maioria dos casos, esse tipo de transmissão pode ser prevenido administrando imunoglobulina da hepatite B (HBIG, de Hepatitis B immune globulin) ao recém-nascido imediatamente após o parto. Esses bebês também devem ser vacinados.

Um terço da população mundial mostra evidência sorológica de infecção anterior – e estima-se que o HBV cause um milhão de mortes anuais. Estima-se que 130 mil norte-americanos, principalmente adultos jovens, são infectados pelo HBV por ano; apenas cerca de 10 mil casos são de fato relatados. Cerca de 5 mil pessoas morrem a cada ano de doenças hepáticas relacionadas com HBV, desde cirrose (endurecimento e degeneração; veja a foto na página 724) até câncer. A resposta imune do hospedeiro ao vírus é responsável pelos danos ao fígado. O período médio de incubação antes do aparecimento dos sintomas é de cerca de 12 semanas, variando entre 4 e 26 semanas.

É importante saber distinguir entre a infecção por HBV aguda e a crônica. O período médio de incubação para a *hepatite por HBV aguda* é de cerca de 12 semanas, variando entre 4 e 26 semanas. Os sinais e os sintomas são altamente variáveis, e as infecções por HBV não podem ser distinguidas de outras infecções de hepatite viral apenas pela aparência clínica. O paciente pode ter sintomas bem leves, como perda de apetite, febre baixa e dores articulares. Apenas uma minoria dos lactentes e das crianças pequenas infectadas apresenta algum sintoma. Contudo, em casos *fulminantes* de hepatite por HBV (agravando rapidamente), os pacientes podem ter febre, náusea e sintomas típicos de icterícia. Pelo menos 90% das infecções agudas por HBV evoluem para recuperação completa, e a taxa de mortalidade geral para infecções por HBV é menor que 1%. Entretanto, embora a hepatite fulminante ocorra em menos de 2% das infecções, é considerada uma taxa de fatalidade muito alta.

Se o HBsAg persiste por mais de seis meses, isso é uma indicação de *hepatite crônica por HBV*; os anticorpos tipo IgM também terão desaparecido mais ou menos nessa época. Para pessoas que foram infectadas há 1 a 5 anos, o risco de desenvolver a doença é maior. O risco para lactentes é de cerca de 90%; em crianças com idade entre 1 e 5 anos, é de 25 a 50%. Adolescentes e jovens adultos têm um risco muito menor de desenvolverem hepatite por HBV crônica: apenas 6 a 10%.

Em geral, até 10% dos pacientes tornam-se portadores crônicos. Esses portadores são reservatórios para a transmissão do vírus e também têm uma alta taxa de doença hepática. Estima-se que existam 1,25 milhão de portadores do HBV nos Estados Unidos. Uma preocupação especial é a forte correlação entre a ocorrência de câncer de fígado e a incidência de infecções crônicas por

hepatite B. Os portadores crônicos têm cerca de 200 vezes mais chance de terem câncer de fígado que a população geral. O câncer hepático é a forma mais prevalente de câncer na África subsariana e no Oriente Médio, áreas onde a hepatite B é extremamente comum. Estima-se que no mundo todo haja 400 milhões de portadores de HBV.

A prevenção de infecções pelo HBV envolve muitas estratégias. As mais importantes incluem precauções como o uso de agulhas e seringas descartáveis e o uso de contraceptivos de barreira, como camisinhas. A triagem do sangue a ser transfundido tem reduzido muito o risco. As vacinas têm sido usadas mundialmente, sendo agora parte integrante do calendário de vacinação infantil nos Estados Unidos. A incidência de infecções por HBV tem declinado abruptamente em áreas nas quais a vacina está em uso, e a eliminação eventual da doença é possível.

Não tem sido possível cultivar o HBV em cultura de células, uma etapa que foi necessária para o desenvolvimento de vacinas para a pólio, a caxumba, o sarampo e a rubéola. As vacinas disponíveis para o HBV utilizam HBsAg produzido por uma levedura alterada geneticamente. A vacinação é recomendada para grupos de alto risco; uma lista parcial incluiria os trabalhadores da saúde expostos ao sangue e aos hemoderivados, pessoas que são submetidas à hemodiálise, pacientes e equipe de instituições de cuidados mentais, usuários de drogas injetáveis e homossexuais masculinos ativos.

Não há tratamentos específicos para infecções agudas por HBV. Tratamentos para infecções crônicas são limitados e não curativos. Lamivudina (um análogo sintético de citosina) combinada com interferon α (IFN-α), de alto custo, resulta em melhora para um número significativo de receptores. Entecavir, recentemente aprovado, reduz a velocidade de multiplicação viral. As drogas de primeira linha são adefovir dipivoxil (um análogo de nucleosídeo) ou entecavir. A droga recentemente aprovada para o tratamento da infecção crônica por HBV é a telbivudina, que tem mostrado efetividade similar à da lamivudina. Transplante de fígado frequentemente é a opção final como tratamento.

Hepatite C

Na década de 1960, surgiu uma forma previamente insuspeita de hepatite transmitida por transfusão, agora denominada **hepatite C**. Essa nova forma de hepatite rapidamente se tornou uma das maiores causas de hepatite transfusional, uma vez que a testagem de HBV praticamente eliminou esse vírus do sangue transfundido. Testes sorológicos foram desenvolvidos para detectar anticorpos do vírus da hepatite C (HCV, de *hepatitis C virus*) que, de forma semelhante, reduziam a transmissão de HCV para níveis muito baixos. Entretanto, existe uma demora de cerca de 70 a 80 dias entre a infecção e o aparecimento de anticorpos de HCV detectáveis. A presença de HCV no sangue contaminado não pode ser detectada durante esse intervalo, e uma em 100 mil transfusões ainda pode resultar em infecção. Laboratórios de coleta de sangue nos Estados Unidos estão introduzindo novos testes, e em breve deverá ser possível detectar o sangue contaminado por HCV em um período de 25 dias a partir da infecção. (Veja o quadro sobre a segurança do fornecimento de sangue, página 727.) Um teste de PCR pode detectar o RNA viral dentro de 1 a 2 semanas pós-infecção.

O HCV contém um RNA de fita simples e é envelopado. O vírus não mata a célula infectada, mas dispara uma resposta inflamatória que ou promove o *clearence* da infecção ou lentamente destrói o fígado. Ele é capaz de rápida variação genética para escapar do sistema imune. Essa característica, além do fato de que atualmente ele pode ser cultivado *in vitro* somente de maneira muito ineficiente, complica a busca por uma vacina eficiente.

A hepatite C tem sido descrita como uma epidemia silenciosa, matando mais pessoas que a Aids nos Estados Unidos. Essa doença é clinicamente inaparente na maioria das vezes – poucas pessoas apresentam sintomas reconhecíveis antes de cerca de 20 anos terem se passado. Até hoje, provavelmente somente uma minoria de infecções já foi diagnosticada. Frequentemente a hepatite C é detectada somente durante algum exame de rotina, como para o seguro de saúde ou para doação de sangue. A maioria dos casos, talvez cerca de 85%, progride para hepatite crônica, uma taxa muito mais alta que a do HBV. Pesquisas indicam uma estimativa de que 3,2 milhões de pessoas estejam cronicamente infectadas nos Estados Unidos. Cerca de 25% dos pacientes cronicamente infectados desenvolvem cirrose hepática ou câncer hepático. A hepatite C provavelmente seja a maior causa de transplante de fígado. Pessoas infectadas com HCV devem ser imunizadas contra HAV e HBV (uma vacina combinada já está disponível) uma vez que não podem arriscar outras complicações hepáticas.

A prevenção do HCV é limitada a uma exposição minimizada, então compartilhar itens como lâminas de barbear, escovas de dente e alicates de unha é muito perigoso. Uma fonte comum de infecção é o uso compartilhado de seringas entre usuários de drogas injetáveis. Pelo menos 80% desse grupo estão infectados com HCV. Em um caso excepcional, a doença foi transmitida por meio de um mesmo canudo usado entre indivíduos para cheirar cocaína. Curiosamente, em mais de um terço dos casos, um modo de transmissão – por sangue contaminado, contato sexual ou outro meio – não pode ser identificado.

O tratamento de escolha é a combinação de drogas, peginterferon (interferon conjugado com polietilenoglicol, que tem uma concentração mais sustentada no sangue circulante) e ribavarina. A desvantagem é que esse tratamento é muito caro e requer um regime de meses. Essa medicação tem muitos efeitos colaterais potencialmente graves. Entretanto, a completa erradicação do HCV é atingida em muitos casos.

Hepatite D (hepatite delta)

Em 1977, um novo vírus da hepatite, conhecido como *vírus da hepatite D* (HDV, de *Hepatitis D virus*), foi descoberto em portadores de HBV na Itália. As pessoas que portavam o assim chamado *antígeno delta* e também estavam infectadas com o HBV tinham uma incidência muito maior de lesão hepática grave e uma taxa de mortalidade muito maior que as pessoas que possuíam anticorpos apenas contra o HBV. Com o tempo, ficou claro que a **hepatite D** pode ocorrer como uma hepatite aguda (*forma de coinfecção*) ou crônica (*forma de superinfecção*). Em pessoas com um caso de hepatite B aguda autolimitada, a coinfecção com o HDV desaparecia quando o HBV era eliminado do sistema, e a condição lembrava um caso típico de hepatite B aguda. Porém, se a infecção pelo HBV progredia para o estágio crônico, a superinfecção com o HDV fre-

APLICAÇÕES DA MICROBIOLOGIA

Uma fonte segura de sangue

Antes da criação de bancos de sangue, um médico tipificou o sangue de um amigo de um paciente até que o tipo correto fosse encontrado. Com o desenvolvimento de técnicas de estocagem de sangue na década de 1940, o banco de sangue tornou-se função de especialistas, não de clínicos gerais (veja a foto). A segurança dos hemoderivados é importante para todas as pessoas, especialmente aquelas com hemofilia, pois elas recebem transfusões regulares de fatores coagulantes. Um importante avanço na proteção do suprimento de sangue contra agentes infecciosos foi a mudança para um sistema de doadores voluntários, que ocorreu em 1979 (os doadores voluntários têm uma taxa de infecções mais baixa que doadores pagos).

Entretanto, o grande número de pacientes com hemofilia que se tornaram infectados com o HIV nos anos 1980 levantou novas questões com respeito à segurança dos hemoderivados. Triagens de doadores mais precisas foram rapidamente introduzidas para evitar a contaminação. Testes sorológicos agora são realizados rotineiramente no sangue doado para detectar a presença de vírus da leucemia de células T humanas, HIV-1, HIV-2, HBV, HCV), bactéria *Treponema pallidum* (causadora da sífilis) e protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Infelizmente, a contaminação no sangue de doadores recém-infectados pode não ser detectada por testes sorológicos porque há uma "janela" entre o aparecimento dos anticorpos e o momento da infecção (janela imunológica). Hoje, quase todo sangue e plasma doados são testados para HCV, HIV e vírus do Oeste do Nilo (*West Nile virus*) através do teste do ácido nucleico (NAT), que detecta diretamente o ácido nucleico do vírus, em vez de seus anticorpos. O NAT reduziu a janela imunológica, durante a qual uma infecção adquirida recentemente não pode ser detectada, para cerca de 25 dias para o HCV e 12 dias para o HIV. Contudo, hoje, o NAT leva ainda vários dias para ser finalizado, por isso as plaquetas, que perdem a validade após cinco dias, estão sendo liberadas antes que o NAT esteja completo.

Existe também a preocupação sobre a possível contaminação do sangue com novos vírus. Uma resposta ao surto de SARS ocorrido em 2003 foi impedir que qualquer pessoa que tivesse viajado a uma área afetada pela SARS fizesse doação por um período de 14 dias. Tecnologias estão sendo introduzidas para purificar o sangue pela remoção de 99,9% das células brancas sanguíneas, as quais abrigam muitos vírus. Outras novas técnicas estão voltadas para tornar inativas quaisquer bactérias ou vírus no sangue. A Cruz Vermelha Norte-Americana exige que o plasma seja tratado para a inativação de vírus. Um suprimento de sangue com risco zero provavelmente é impossível, mas o objetivo é tornar o suprimento de sangue o mais seguro possível. Substitutos sintéticos para o sangue estão sendo desenvolvidos e poderão, um dia, repor a necessidade de um doador de sangue.

O médico norte-americano Charles Drew inventou a técnica de separação do plasma que permitiu a estocagem do sangue.

quentemente era acompanhada de lesão hepática progressiva e uma taxa de fatalidade várias vezes superior à de pessoas infectadas apenas com o HBV

Epidemiologicamente, a hepatite D está ligada à epidemiologia da hepatite B. Nos Estados Unidos e no norte da Europa, a doença ocorre predominantemente em grupos de alto risco como os usuários de drogas injetáveis.

Estruturalmente, o HDV contém uma fita simples de RNA, que é mais curta do que a de qualquer outro vírus de animais. A partícula não é capaz de causar uma infecção. Ela se torna infecciosa quando um envelope externo de HBsAg, cuja formação é controlada pelo genoma do HBV, recobre a proteína do cerne do HDV (o antígeno delta; veja a Figura 25.15).

Hepatite E

A **hepatite E** se dissemina por transmissão fecal-oral de modo muito similar à hepatite A, à qual se assemelha clinicamente. O patógeno, conhecido como *vírus da hepatite E* (*HEV*, de *hepatitis E virus*), é endêmico em áreas do mundo com saneamento ruim, especialmente na Índia e no sudoeste da Ásia. Ele se assemelha ao HAV, pois é um vírus não envelopado e apresenta uma fita simples de RNA, porém não é relacionado sorologicamente a ele. Assim como

Figura 25.16 **Rotavírus.** Esta micrografia eletrônica corada negativamente mostra a morfologia do rotavírus (*rota* = roda), que dá nome ao vírus.

P **Que doença o rotavírus causa?**

o vírus da hepatite A, o HEV não causa doença hepática crônica, mas, por alguma razão ainda sem explicação, é responsável por uma taxa de mortalidade de mais de 20% em gestantes.

Outros tipos de hepatite

Novas técnicas em biologia molecular e sorologia forneceram evidências de vírus transmitidos pelo sangue conhecidos como *vírus da hepatite F* (*HFV*) e *vírus da hepatite G* (*HGV*). O HGV é encontrado no mundo inteiro e é mais prevalente nos Estados Unidos do que o HCV. O HGV é estreitamente relacionado com o HCV e algumas vezes é chamado de GB vírus C (GBV-C). Aparentemente, contudo, ele está tão bem adaptado ao seu hospedeiro humano que não causa nenhuma condição clínica significativa. Cerca de 5% dos casos de doença hepática crônica não podem ser atribuídos a nenhuma forma de hepatite da série conhecida de A até E. Ainda não se sabe se esses casos serão, algum dia, atribuídos ao HFV ou HGV, ou a algum outro membro acrescido a essa explosão alfabética.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Das muitas doenças hepáticas causadas por HAV, HBV, HCV, HDV e HEV, quais vírus possuem agora vacinas efetivas para preveni-las? **25-6**

Gastrenterite viral

A gastrenterite aguda é uma das doenças mais comuns em seres humanos, e cerca de 90% dos casos de gastrenterite viral são causados por vírus dos gêneros *Rotavirus* e *Norovirus*, este último incluindo os vírus Norwalk.

Rotavirus

O ***Rotavirus*** (**Figura 25.16**) provavelmente seja a causa mais comum de gastrenterite viral, especialmente em crianças. Estima-se que ele cause cerca de 3 milhões de casos, mas menos de 100 mortes a cada ano nos Estados Unidos. A mortalidade é muito mais alta em países menos desenvolvidos, pois a terapia de reidratação oral nem sempre está disponível. Mais de 90% das crianças nos Estados Unidos estão infectados aos três anos. A imunidade adquirida, então, torna as infecções, com exceção de algumas amostras, muito menos comuns em adultos. Na maioria dos casos, após um período de incubação de 2 a 3 dias, o paciente apresenta febre baixa, diarreia e vômitos, os quais persistem por aproximadamente uma semana.

Normalmente há um pico de casos durante os meses do inverno. Estima-se que uma dose infecciosa seja de menos de 100 partículas virais, e o paciente dissemina milhões em cada grama de fezes. A primeira vacina introduzida em 1998 para prevenir a infecção por rotavírus foi retirada após o desenvolvimento de sérios problemas nos vacinados. Em 2006, uma vacina viva de administração oral foi licenciada. As infecções por *Rotavirus* são rotineiramente diagnosticadas por muitos tipos de testes disponíveis comercialmente, como ensaios imunoenzimáticos. O tratamento em geral é limitado à terapia de reidratação.

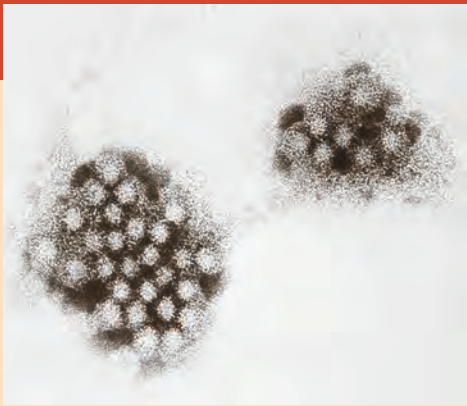
Norovirus

Os ***Norovirus*** foram inicialmente identificados durante um surto de gastrenterite em Norwalk, Ohio, em 1968. O agente responsável foi identificado em 1972 e denominado *Norwalk virus*. Mais tarde, muitos vírus similares foram identificados e este grupo foi inicialmente denominado *Norwalk-like viruses* (*vírus semelhantes ao Norwalk*). Todos foram considerados membros da família *Caliciviridae* (do latim *calyx*, significando taça – depressões semelhantes a taças são visíveis na superfície dos vírus em microscopia eletrônica) e são agora denominados gênero *Norovirus*. Eles são difíceis de serem cultivados em linhagens celulares e não infectam animais de uso comum de laboratório. Os seres humanos tornam-se infectados por transmissão fecal-oral a partir de água e alimentos contaminados e até mesmo de aerossóis de vômito. A dose infectante pode ser de apenas 10 partículas virais. Os vírus continuam a ser disseminados por muitos dias após os pacientes estarem assintomáticos. Mais de 20 milhões de casos de gastrenterite por *Norovirus* ocorrem anualmente nos Estados Unidos, mas somente cerca de 300 mortes. Cerca de 50% dos norte-americanos adultos mostram evidência sorológica de terem sido infectados. Veja o quadro no Capítulo 9, página 266. A amostra atualmente dominante de norovírus pode ter surgido por volta de 2002, o que é atribuído a uma série de fatores possíveis. Esta amostra pode ser mais virulenta ou ambientalmente mais estável; também, algumas pessoas podem ter tido resistência a ela em exposições prévias. A resistência natural a uma amostra específica pode durar apenas alguns meses, no máximo três anos.

Prevenção da transmissão após um surto em um cruzeiro ou restaurante, por exemplo, tem provado ser um problema desafia-

DOENÇAS EM FOCO 25.4

Doenças virais do sistema digestório

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os testes laboratoriais. Por exemplo, um surto de diarreia com início no meio de junho teve seu pico no meio de agosto e terminou em setembro. Um caso clínico inicial foi definido como diarreia (três defecações em um período de 24 horas) em um membro de um clube de natação. O vírus mostrado na foto foi isolado do paciente. Utilize a tabela para identificar as infecções que poderiam causar estes sintomas.

Vírus cultivado das fezes do paciente. 50 nm

Doença	Patógeno	Sintomas	Período de incubação	Teste diagnóstico	Tratamento
Caxumba	Vírus da caxumba, *Paramyxoviridae*	Edema doloroso das glândulas parótidas	16 a 18 dias	Sintomas; cultivo viral	Vacina preventiva
Gastrenterite viral	*Rotavirus*	Vômito e diarreia por uma semana	1 a 3 dias	Ensaio imunoenzimático para antígenos virais nas fezes	Reidratação oral
	Norovirus	Vômito e diarreia por 2 a 3 dias	18 a 48 horas	PCR	Reidratação oral
Hepatite (Veja Doenças em Foco na página 724)					

dor. Os vírus são de maneira incomum persistentes em superfícies ambientais como maçanetas e botões de elevadores. Eles não são facilmente inativados por etanol ou detergentes para as mãos, embora o CDC recomende o uso de géis sanitizantes para as mãos, como o Purell, que contém mais de 62% de etanol. Para uma maior descontaminação, superfícies não porosas requerem soluções contendo 1.000 a 5.000 ppm de hipoclorito (uma solução de 1:50 ou 1:10 de cloro alvejante a 5,26%, respectivamente). O EPA recomenda o uso de um peróxido composto (veja a página 202) chamado de Virkon-S para a descontaminação de superfícies.

Para detectar norovírus em amostras fecais, laboratórios utilizam testes sensíveis de PCR e ensaios imunoenzimáticos (EIAs). A disponibilidade desses ensaios novos e sensíveis levou ao reconhecimento do norovírus como uma das causas mais comuns (ao menos a metade dos surtos recentes de contaminação alimentar nos Estados Unidos) de gastrenterites não bacterianas.

Seguindo-se um período de incubação de 18 a 48 horas, o paciente apresenta vômito e/ou diarreia por 2 a 3 dias. Vômito é o sintoma mais prevalente em crianças; a maioria dos adultos apresenta quadros diarreicos, embora muitos adultos tenham somente vômitos. A gravidade dos sintomas com frequência depende da dose infectiva.

O único tratamento para gastrenterite viral é a reidratação oral, ou, em casos excepcionais, a reidratação endovenosa. As doenças virais do trato GI estão resumidas em Doenças em Foco 25.4.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ As duas causas mais comuns de gastrenterites virais são o rotavírus e o norovírus. Qual deles pode ser prevenido pelo uso de vacina?

Doenças fúngicas do sistema digestório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-8 Identificar as causas da intoxicação por ergot e por aflatoxina.

Alguns fungos produzem toxinas denominadas *micotoxinas*. Quando ingeridas, essas toxinas causam doenças sanguíneas, distúrbios do sistema nervoso, lesão renal, lesão hepática e mesmo câncer. Intoxicação por micotoxinas é considerada quando múltiplos pacientes apresentam sinais e sintomas clínicos similares. O diagnóstico normalmente tem como base os achados de fungo ou micotoxinas no alimento suspeito (Doenças em Foco 25.5, página 734).

Figura 25.17 A forma de trofozoíto da *Giardia lamblia*, o protozoário flagelado que causa a giardíase. Observe a marca circular deixada na parede intestinal pela ventosa ventral que o parasita usa para fixar-se. O lado dorsal é levemente recurvado, e o conteúdo intestinal move-se facilmente em torno do micro-organismo aderido.

P O que é o teste do fio para a giardíase?

Intoxicação por ergot

Algumas micotoxinas são produzidas pelo *Claviceps purpurea*, um fungo causador de infecções em sementes. As micotoxinas produzidas pelo *C. purpurea* causam **intoxicação por ergot**, ou *ergotismo*, que resulta da ingestão de centeio ou de outros cereais em grão contaminados com o fungo. O ergotismo era muito disseminado na Idade Média. A toxina pode restringir o fluxo sanguíneo nos membros, resultando em gangrena. Ela também pode causar sintomas alucinógenos, produzindo um comportamento bizarro similar ao causado pelo LSD.

Intoxicação por aflatoxina

A *aflatoxina* é uma micotoxina produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, um mofo comum. A aflatoxina tem sido encontrada em muitos alimentos, mas é mais provável em amendoins. A **intoxicação por aflatoxina** pode causar lesão séria ao rebanho, quando sua ração está contaminada com *A. flavus*. Embora o risco para os seres humanos seja desconhecido, existem fortes evidências de que a aflatoxina contribui para a cirrose hepática e o câncer de fígado em partes do mundo como a Índia e a África, onde os alimentos estão sujeitos à contaminação por aflatoxinas.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a conexão entre os sintomas alucinógenos produzidos pela intoxicação por ergot e aqueles produzidos por uma droga ilícita moderna? **25-8**

Doenças protozoóticas do sistema digestório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-9 Listar os agentes causais, os modos de transmissão, os sintomas e o tratamento para giardíase, criptosporidiose, infecção diarreica por *Cyclospora* e disenteria amebiana.

Vários protozoários patogênicos completam seus ciclos vitais no sistema digestório humano. Geralmente, eles são ingeridos como cistos resistentes e infecciosos e são disseminados em números muito maiores como cistos recém-produzidos.

Giardíase

Giardia lamblia (frequentemente conhecida com *G. intestinalis*, de uso comum do CDC) é um protozoário flagelado capaz de se fixar firmemente à parede intestinal humana (**Figura 25.17**). Em 1681, van Leeuwenhoek descreveu-os como tendo "corpos... um pouco mais compridos do que largos e sua barriga, que era achatada, possuía diversas patas pequenas".

G. lamblia é a causa da **giardíase**, uma doença diarreica prolongada. Algumas vezes persistindo por semanas, a giardíase é caracterizada por mal-estar, náuseas, flatulência (gases intestinais), fraqueza, perda de peso e cólicas abdominais. O odor distinto do sulfeto de hidrogênio frequentemente pode ser detectado no hálito ou nas fezes. O protozoário, que se reproduz por fissão binária, algumas vezes ocupa tanto espaço na parede intestinal que interfere na absorção dos alimentos.

Surtos de giardíase nos Estados Unidos ocorrem com frequência especialmente durante estações de acampamento e de nado. Cerca de 7% da população são portadores saudáveis e disseminam os cistos em suas fezes. O patógeno também é disseminado por uma série de mamíferos selvagens, especialmente castores, e a doença ocorre em mochileiros que bebem água não tratada.

A maioria dos surtos é transmitida por suprimentos de água contaminada. Em uma pesquisa nacional recente das águas de superfície que servem como fontes para os municípios dos Estados Unidos, o protozoário foi detectado em 18% das amostras. Uma vez que o estágio de cisto é relativamente insensível ao cloro, a filtração ou fervura dos suprimentos de água geralmente é necessária para eliminar os cistos da água.

Uma vez que a *G. lamblia* não pode ser identificada de modo confiável nas fezes sob exame microscópico, o teste do fio algumas vezes é usado para o diagnóstico. Nesse teste, uma cápsula de gelatina com cerca de 140 cm de fio fino é deglutida pelo paciente. Uma das pontas do fio é presa à bochecha. A cápsula de gelatina se dissolve no estômago, e uma bolsa de borracha pesada, envolvida pela cápsula e aderida à outra extremidade do fio, penetra no intestino superior. Após algumas horas, o fio é removido através da boca e examinado para a forma de trofozoíto da G. *lamblia*. Vários testes ELISA comercialmente disponíveis detectam tanto os ovos quanto o parasita em amostras de fezes. Esses testes são especialmente úteis para a triagem epidemiológica. O CDC frequentemente recomenda um teste de anticorpo fluorescente (FA) direto (veja a Figura 18.11a, página 515) para detectar cistos. Estes testes são particularmente úteis para triagem epidemiológica. O teste para *Giardia* na água para consumo é difícil, mas frequentemente necessário para prevenir ou localizar surtos de doenças. Esses testes muitas vezes são combinados com testes para o protozoário *Cryptosporidium*, discutido na próxima seção.

O tratamento com metronidazol ou hidrocloreto de quinacrina geralmente é efetivo dentro de uma semana. A FDA aprovou recentemente uma nova droga de uso oral, a nitazoxanida, para a criptosporidiose (veja a Figura 25.18) e a giardíase. Como o metronidazol,

esta droga é afetada por vias de metabolismo anaeróbico e requer um regime de tratamento curto.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ A giardíase é causada pela ingestão de cistos ou oocistos? **25-9**

Criptosporidiose

A **criptosporidiose** é causada pelo protozoário *Cryptosporidium*. Recentemente foram feitas modificações na taxonomia; a principal espécie que infecta os seres humanos é agora denominada *C. hominis* (previamente era o *C. parvum* genótipo 1), raramente infecta animais. O *C. parvum* (previamente denominado *C. parvum* genótipo 2) infecta seres humanos e rebanhos animais. O termo *criptosporidiose* descreve infecções por ambos os micro-organismos. A infecção ocorre quando seres humanos ingerem os oocistos do *Cryptosporidium* (**Figura 25.18**). Os oocistos liberam esporozoítos no intestino delgado. Os esporozoítos móveis invadem as células epiteliais do intestino e passam por um ciclo que libera os oocistos para serem excretados nas fezes (compare com o ciclo de vida semelhante do *Toxoplasma gondii* na Figura 23.23, página 662). A doença é uma diarreia tipo cólera com uma duração de 10 a 14 dias. Em pessoas imunodeficientes, incluindo pacientes com Aids, a diarreia se torna progressivamente mais forte e é potencialmente letal.

A infecção é amplamente transmitida para os seres humanos pelos sistemas de água para recreação e para consumo, contaminados com oocistos do *Cryptosporidium*, provenientes principalmente de dejetos de animais, em especial gado. Estudos nos Estados Unidos mostram que, se não todos, muitos lagos, córregos e até poços estão contaminados. Os oocistos, como os cistos de *G. lamblia*, são resistentes à cloração e precisam ser removidos da água pela filtragem; até mesmo a filtragem às vezes falha. Isso é especialmente verdadeiro em piscinas, onde os sistemas de cloração e filtragem não são eficazes para remover os oocistos. Uma dose infectiva pode ser tão baixa quanto dez oocistos. A transmissão fecal-oral resultante de baixo saneamento também acontece; diversos surtos em creches já ocorreram.

O teste da água é importante, mas os métodos disponíveis atualmente têm sido descritos como incômodos, demorados e ineficazes. O mais usado é um teste de FA que pode detectar simultaneamente os cistos de *G. lamblia* e os oocistos de *Crytosporidium*. Testes regulares da água provavelmente se tornarão obrigatórios, e pesquisas de métodos mais simples e mais confiáveis têm alta prioridade para a saúde pública.

A droga recomendada para tratamento é a recentemente introduzida nitazoxanida, também efetiva nos tratamentos de giardíase.

A criptosporidiose é diagnosticada com mais confiabilidade nos laboratórios, pela detecção de oocistos nas amostras fecais por exames microscópicos, algumas vezes acompanhados por ensaios por anticorpos utilizando FA. O teste de FA direto é considerado o "padrão-ouro". A presença de antígenos de oocistos ou esporozoítos nas amostras fecais também pode ser determinada pelo uso de testes de imunoensaios disponíveis comercialmente.

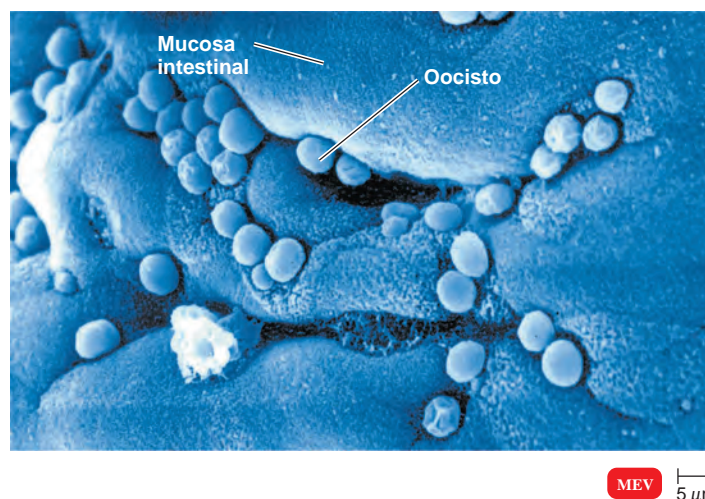



Figura 25.18 Criptosporidiose. Os oocistos de *Cryptosporidium hominis* são mostrados aqui embebidos na mucosa intestinal.

P Como a criptosporidiose é transmitida?

Infecção diarreica por *Cyclospora*

Um protozoário descoberto em 1993 é responsável por uma série de surtos de doenças diarreicas nos anos recentes. Este patógeno foi denominado *Cyclospora cayetanensis*.

Os sintomas da **infecção diarreica por *Cyclospora*** são alguns dias de diarreia aquosa, mas, em alguns casos, ela pode persistir por semanas. A doença é especialmente debilitante para pessoas imunossuprimidas, como os pacientes com Aids. Não se sabe se os seres humanos são o único hospedeiro para o protozoário. A maioria dos surtos foi associada à ingestão de oocistos na água, em frutas silvestres contaminadas ou alimentos mal-cozidos. Presume-se que os alimentos tenham sido contaminados por oocistos disseminados nas fezes humanas, ou possivelmente de aves do campo.

O exame microscópico pode identificar os oocistos, que têm aproximadamente o dobro do diâmetro daqueles do *Cryptosporidium*. Não existe de fato nenhum teste satisfatório para detectar a contaminação de alimentos. A combinação de trimetoprim e sulfametoxazol é usada no tratamento.

Disenteria amebiana (amebíase)

A **disenteria amebiana**, ou **amebíase**, é disseminada principalmente por alimentos ou água contaminados por cistos do protozoário amebiano *Entamoeba histolytica* (veja a Figura 12.17b, página 348). Embora o ácido do estômago possa destruir os trofozoítos, ele não afeta os cistos. No trato intestinal, a parede do cisto é digerida, e os trofozoítos são liberados. Então, se multiplicam nas células epiteliais da parede do intestino grosso. Ocorre uma disenteria grave, e as fezes contêm caracteristicamente sangue e muco. Os trofozoítos alimentam-se dos tecidos no trato gastrintestinal (**Figura 25.19**).

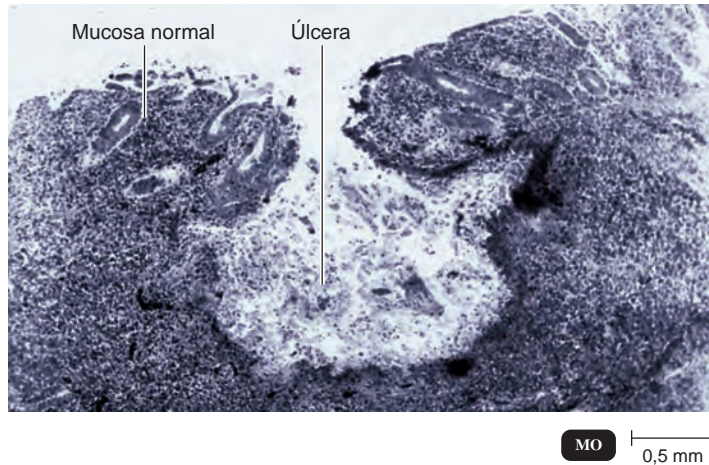



Figura 25.19 Uma secção da parede intestinal mostrando uma ulceração típica em forma de cantil, causada por *Entamoeba histolytica*.

P Se a lesão progredir o bastante, pode ser potencialmente letal?

Figura 25.20 A prevalência mundial da infecção humana com helmintos intestinais selecionados.

Fonte: Organização Mundial da Saúde.

P Como cada uma dessas doenças é transmitida?

Infecções bacterianas graves resultam se a parede intestinal for perfurada. Os abscessos podem necessitar de tratamento cirúrgico, e a invasão de outros órgãos, particularmente o fígado, não é incomum. Talvez 5% da população dos Estados Unidos sejam portadores assintomáticos de *E. histolytica*. Em todo o mundo, estima-se que uma pessoa em cada dez esteja infectada, na maioria de forma assintomática, e cerca de 10% dessas infecções progridam para os estágios mais sérios.

O diagnóstico depende muito da recuperação e da identificação dos patógenos nas fezes (hemácias, ingeridas à medida que o parasita se alimenta do tecido intestinal e observadas dentro do trofozoíto de uma ameba, ajudam a identificar a *E. histolytica*). Vários testes sorológicos também podem ser utilizados para o diagnóstico, incluindo a aglutinação em látex e testes com anticorpo fluorescente. Esses testes são especialmente úteis quando as áreas afetadas estão fora do trato intestinal e o paciente não está evacuando amebas.

Metronidazol mais iodoquinol são as drogas de escolha no tratamento.

Doenças helmínticas do sistema digestório

OBJETIVO DO APRENDIZADO

25-10 Listar os agentes causais, os modos de transmissão, os sintomas e o tratamento para teníases, hidatidose, oxiurose, infestações por nematódeos, ascaridíase e triquinelose.

Os parasitas helmínticos são muito comuns no trato intestinal humano, especialmente em condições de mau saneamento. A **Figura 25.20** mostra a incidência mundial da infecção por alguns helmintos intestinais. Apesar do seu tamanho e aspecto formidável, eles frequentemente produzem poucos sintomas. Eles se tornaram tão bem adaptados aos seus hospedeiros humanos e vice-versa que, quando sua presença é revelada, muitas vezes é uma surpresa.

Doenças em Foco 25.5 resume as doenças do sistema digestório causadas por helmintos.

Teníases

O ciclo de vida de uma **tênia** típica estende-se por três estágios. O verme adulto vive no intestino de um hospedeiro humano, onde produz ovos que são excretados nas fezes (veja a Figura 12.26, página 358). Os ovos são ingeridos por animais, como o gado que pasta, onde o ovo eclode em uma forma larval denominada *cisticerco*, que se aloja nos músculos dos animais. As infecções humanas por tênias começam com o consumo de carne de gado, porco ou peixe mal-cozida, contendo cisticercos. Eles se desenvolvem em adultos que se fixam na parede intestinal por ventosas no escólex (veja a foto na Figura 12.26, página 358).

A tênia adulta do gado de corte, *Taenia saginata*, pode viver no intestino humano por 25 anos e atinge um comprimento de 6 m ou mais. Mesmo um verme desse tamanho raramente causa sintomas significativos além de um vago desconforto abdominal. Existe, contudo, um desconforto psicológico quando um metro ou mais de segmentos destacados (proglótides) soltam-se e inesperadamente escapam pelo ânus, o que acontece ocasionalmente.

A *Taenia solium*, a tênia do porco, tem um ciclo de vida similar à tênia do gado bovino. Uma diferença importante é que a *T. solium* pode produzir o estágio larval no hospedeiro humano. A **teníase** desenvolve-se quando o verme adulto infecta o intestino humano. Esta é uma forma geralmente benigna, uma condição assintomática, mas o hospedeiro expele continuamente ovos de *T. solium,* os quais contaminam mãos e alimentos em condições sanitárias precárias. A **cisticercose**, infecção com o estágio larval, pode se desenvolver quando seres humanos ou suínos ingerem ovos de

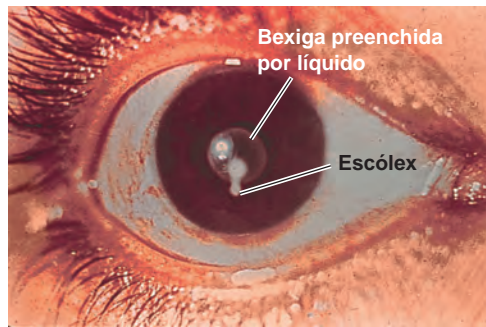



Figura 25.21 **Cisticercose oftálmica.** Alguns casos de cisticercose afetam o olho.

P **Qual órgão é mais facilmente afetado pela neurocisticercose?**

T. solium. Esses ovos podem ser liberados do trato digestório e se desenvolver para o estágio de larvas, que se alojam no tecido (normalmente cérebro ou músculos). O cisticerco no tecido muscular é relativamente benigno, mas as larvas ocasionalmente se alojam no olho, causando a **cisticercose oftálmica**, afetando a visão (Figura 25.21). A **neurocisticercose**, que é endêmica no México e na América Central, vem se tornando uma condição bastante comum em partes dos Estados Unidos com grandes populações imigrantes mexicanas e da América Central.

Os sintomas frequentemente mimetizam aqueles da epilepsia ou de um tumor cerebral. O número de casos relatados reflete, em parte, o uso da tomografia computadorizada (TC) ou de imagens de ressonância magnética (IRM) no diagnóstico. Essas máquinas caras radiografam o corpo em "cortes" contínuos. Em áreas endêmicas, pode-se fazer uma triagem dos pacientes neurológicos com testes sorológicos para anticorpos anti-*T. solium*.

A tênia do peixe *Diphyllobothrium latum* é encontrada no lúcio, na truta, na perca e no salmão. O CDC tem emitido alertas sobre os riscos de infecção pela tênia do peixe em sashimi e sushi (pratos japoneses preparados com peixe cru), alimentos que se tornam cada vez mais populares. Para relatar uma situação comum, cerca de 10 dias após ingerir sushi, uma pessoa desenvolveu sintomas de distensão abdominal, flatulência, eructação, cólicas abdominais intermitentes e diarreia. Oito dias depois, o paciente eliminou uma tênia com 1,2 m de comprimento, identificada como uma espécie de *Diphyllobothrium*.

O diagnóstico laboratorial consiste em identificar os ovos de tênia ou segmentos nas fezes. Tênias adultas no estágio intestinal podem ser eliminadas com drogas antiparasitárias como o praziquantel e o albendazol. Casos de neurocisticercose podem algumas vezes ser tratados com drogas, mas eles frequentemente pioram a situação, e pode ser necessária uma cirurgia para remover os cisticercos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Que espécies de tênias são a causa de cisticercose? **25-10**

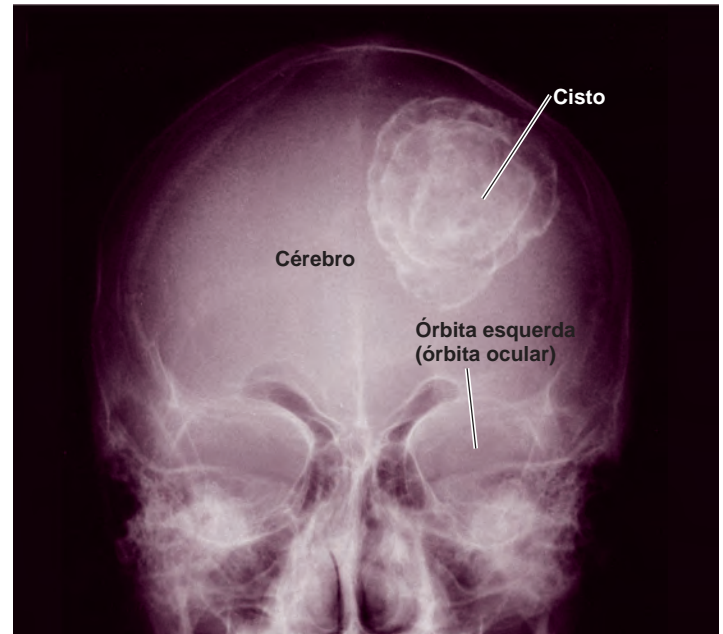



Figura 25.22 **Um cisto hidático formado pelo *Echinococcus granulosus*.** Um cisto grande pode ser visto neste raio X do cérebro de um indivíduo infectado.

P **Como um cisto hidático pode afetar o corpo?**

Hidatidose

Nem todas as tênias são grandes. Uma das mais perigosas é o *Echinococcus granulosus*, que tem apenas alguns milímetros de comprimento (veja a Figura 12.27, página 359). Os seres humanos não são os hospedeiros definitivos. A forma adulta vive no trato intestinal de animais carnívoros, como cães e lobos. Tipicamente, os seres humanos tornam-se infectados pelas fezes de um cão que foi infectado ingerindo a carne de ovelhas ou cervos contendo a forma cística da tênia. Infelizmente, os seres humanos podem ser o hospedeiro intermediário, e os cistos podem se desenvolver no corpo. A doença ocorre mais frequentemente em pessoas que criam ovelhas, caçam ou aprisionam animais selvagens.

Uma vez ingeridos por um ser humano, os ovos do *E. granulosus* podem migrar para vários tecidos do corpo. O fígado e os pulmões são os sítios mais comuns, mas o cérebro e numerosos outros sítios também podem ser infectados. Uma vez no local, o ovo se desenvolve em um **cisto hidático**, que pode crescer até um diâmetro de 1 cm em alguns meses (Figura 25.22). Em algumas localizações, os cistos podem não ser aparentes por muitos anos. Em locais onde eles são livres para se expandir, tornam-se enormes, contendo até 15 L de líquido.

Lesões podem ocorrer devido ao tamanho do cisto em áreas como o cérebro ou o interior dos ossos. Se o cisto se rompe no hospedeiro, pode levar ao desenvolvimento de muitos cistos filhos. Outro fator na patogenicidade desses cistos é que o líquido contém material proteináceo, ao qual o hospedeiro torna-se sensibilizado.

DOENÇAS EM FOCO 25.5

Coloração álcool-ácido resistente das fezes do paciente.

6 μm

MO

Doenças fúngicas, protozoóticas e helmínticas do sistema digestório inferior

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os testes laboratoriais. Por exemplo, agentes de saúde pública na Pensilvânia foram notificados de casos de diarreia aquosa, com movimentos intestinais frequentes e algumas vezes intensos entre pessoas associada a um abrigo (p. ex., residentes, trabalhadores e voluntários). A doença foi associada com a ingestão de ervilhas. Utilize a tabela para identificar as possíveis causas desses sintomas.

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório ou hospedeiro	Teste diagnóstico	Tratamento
DOENÇAS FÚNGICAS					
Intoxicação por ergot	*Claviceps purpurea*	Fluxo sanguíneo restrito aos braços; alucinógeno	Micotoxina produzida pelo fungo que cresce em gramíneas	Localização da massa micelial (*sclerotia*) no alimento	Nenhum
Intoxicação por aflatoxina	*Aspergillus flavus*	Cirrose hepática; câncer hepático	Micotoxina produzida pelo fungo que cresce no alimento	Imunoensaio para a toxina no alimento	Nenhum
DOENÇAS PROTOZOÓTICAS					
Giardíase	*Giardia lamblia*	O protozoário adere-se à parede intestinal, podendo inibir a absorção intestinal; causa diarreia	Água; mamíferos	FA	Metronidazol; quinacrina
Criptosporidiose	*Cryptosporidium hominis*	Diarreia autolimitante, mas pode ser potencialmente letal em pacientes imunossuprimidos	Gado bovino; água	Coloração álcool-ácido resistente; FA; ELISA	Reidratação oral
Infecção diarreica por *Cyclospora*	*Cyclospora cayetanensis*	Diarreia aquosa	Seres humanos; aves; normalmente ingerido com frutas e vegetais	Coloração álcool-ácido resistente	Trimetoprim e sulfametoxazol
Disenteria amebiana (amebíase)	*Entamoeba hystolitica*	A ameba lisa as células epiteliais do intestino, causando abscessos; taxa de mortalidade significativa	Seres humanos	Microscopia; sorologia	

Se o cisto subitamente se romper, o resultado pode ser um choque anafilático potencialmente letal.

Para o diagnóstico, muitos testes sorológicos que detectam anticorpos circulantes são úteis na triagem. Se disponíveis, testes de imagem com raios X, TC e IRM são melhores.

O tratamento normalmente é remoção cirúrgica, mas deve-se ter cuidado para evitar a liberação do líquido e a potencial disseminação da infecção ou choque anafilático. Se a remoção não for possível, a droga albendazol pode ser utilizada para matar os cistos.

Nematódeos

Oxiurose

Muitos de nós estão familiarizados com o **verme oxiúro**, *Enterobius vermicularis* (veja a Figura 12.28, página 360). Esse pequeno verme (fêmeas têm 8 a 13 mm de comprimento; machos, 2 a 5 mm) migra para fora do ânus do hospedeiro humano para colocar seus ovos, causando prurido local. Todo o domicílio pode se tornar infectado. O diagnóstico normalmente tem como base o achado dos ovos

Doença	Patógeno	Sintomas	Reservatório ou hospedeiro	Teste diagnóstico	Tratamento
DOENÇAS HELMÍNTICAS					
Teníase	*Taenia saginata* (boi); *T. solium* (porco); *Diphyllobothrium latum* (peixe)	Os helmintos vivem do conteúdo intestinal não digerido com poucos sintomas; a tênia do suíno pode induzir a forma larval em muitos órgãos (neurocisticercose) e causar dano	Hospedeiro intermediário: bois, porcos e peixes; hospedeiro definitivo: seres humanos	Exame microscópico das fezes	Praziquantel; albendazol
Hidatidose	*Echinococcus granulosus*	Forma larval no corpo; pode ser muito grande e causar dano	Hospedeiro intermediário: seres humanos; Hospedeiro definitivo: cães	Sorologia; exames de raios X	Remoção cirúrgica; albendazol
Oxiurose	*Enterobius vermiculares*	Prurido ao redor do ânus	Hospedeiro intermediário: seres humanos; Hospedeiro definitivo: seres humanos	Exame microscópico	Pamoato de pirantel
Ancilostomíase	*Necator americanus; Ancylostoma duodenale*	Grandes infestações podem resultar em anemia	As larvas entram pela pele a partir do solo; Hospedeiro definitivo: seres humanos	Exame microscópico	Mebendazol
Ascaridíase	*Ascaris lumbricoides*	Os helmintos vivem do conteúdo intestinal não digerido com poucos sintomas	Hospedeiro intermediário: seres humanos; Hospedeiro definitivo: seres humanos	Exame microscópico	Mebendazol
Triquinelose	*Trichinella spiralis*	As larvas se encistam no músculo estriado; normalmente há poucos sintomas, mas as grandes infestações podem ser fatais	Hospedeiro intermediário: mamíferos (incluindo seres humanos); Hospedeiro definitivo: mamíferos (incluindo seres humanos)	Biópsia; ELISA	Mebendazol; corticosteroides

ao redor do ânus. Eles podem ser visualizados em fitas de celulose transparentes pressionadas contra a pele. A fita é transferida para uma lâmina e visualizada ao microscópio. Drogas como o pamoato de pirantel (frequentemente disponível sem prescrição médica) e o mebendazol normalmente são efetivas no tratamento.

Ancilostomíase

As infestações por **ancilóstomos** antigamente eram uma doença parasitária muito comum nos estados do sudoeste norte-americano, onde a espécie mais frequentemente encontrada é o *Necator americanus*. Outra espécie, *Acyclostoma duodenale*, é amplamente disseminada pelo mundo.

O ancilóstomo se fixa à parede intestinal e se alimenta de sangue e tecido, em vez do alimento parcialmente digerido (**Figura 25.23**), de modo que a presença de grande número de vermes pode levar à anemia e ao comportamento letárgico. Infecções graves também podem levar a um sintoma bizarro conhecido como *pica*, uma compulsão por alimentos peculiares, como amido de engomar

Figura 25.23 **Um *Ancylostoma* aderido à mucosa intestinal.** Observe como a boca do verme está adaptada à alimentação no tecido.

P Como uma infecção por um ancilóstomo pode levar à anemia?

Figura 25.24 ***Ascaris lubricoides*, a causa da ascaridíase.** Esta fotografia mostra um macho (o verme menor com a extremidade enrolada) e uma fêmea. Esses vermes têm até 30 cm de comprimento.

P Quais as principais características do ciclo de vida do *A. lumbricoides*?

roupas ou terra contendo certo tipo de argila. A pica é um sintoma de anemia por deficiência de ferro.

A incidência da ancilostomíase tem diminuído muito com a melhoria das condições sanitárias e a prática do uso de calçados, uma vez que o ciclo de vida dos ancilóstomos requer que fezes humanas penetrem o solo e a pele nua entre em contato com o solo contaminado. As infecções por ancilóstomos podem ser tratadas efetivamente com mebendazol.

Ascaridíase

Uma das infecções helmínticas mais disseminadas é a **ascaridíase**, causada por *Ascaris lumbricoides*. Essa condição é conhecida de muitos médicos norte-americanos.* Como descrito no Capítulo 12 (página 358), o diagnóstico frequentemente é feito quando um verme adulto emerge do ânus, da boca ou do nariz. Esses vermes podem ser bastante grandes, com até 30 cm de comprimento (**Figura 25.24**). No trato intestinal, eles vivem no alimento parcialmente digerido e causam poucos sintomas.

O ciclo de vida do verme inicia quando os ovos são disseminados nas fezes de uma pessoa (cerca de 200.000 por dia) e, em más condições de saneamento, são ingeridos por outra pessoa. No intestino superior, os ovos eclodem em pequenas larvas vermiformes que passam à corrente sanguínea e então aos pulmões. A seguir, as larvas migram para a garganta e são deglutidas. Elas se desenvolvem em adultos que colocam ovos nos intestinos. (Toda esta migração apenas para retornar ao lugar de onde começaram!).

Nos pulmões, as pequenas larvas podem causar alguns sintomas pulmonares. Números extremamente grandes podem bloquear o intestino e o ducto colédoco ou pancreático. Os vermes geralmente não causam sintomas graves, mas sua presença pode se manifestar de modos perturbadores. As consequências mais dramáticas da infecção com *A. lumbricoides* são as migrações dos vermes adultos. Já houve casos de vermes saindo do corpo de crianças pequenas através do umbigo e escapando através das narinas de pessoas dormindo. As fezes são utilizadas no diagnóstico, em exames microscópicos para a localização de ovos. Uma vez que a ascaridíase seja diagnosticada, pode ser tratada efetivamente com mebendazol ou albendazol.

Triquinelose

A maioria das infestações pelo pequeno nematelminto *Trichinella spiralis*, denominadas **triquinelose**, é insignificante. As larvas, em forma encistada, estão localizadas nos músculos do hospedeiro. Em 1970, autópsias de rotina dos músculos do diafragma humano mostraram que cerca de 4% dos cadáveres testados eram portadores desse parasita.

P&R A gravidade da doença geralmente é proporcional ao número de larvas ingeridas. A ingestão de carne de porco mal-cozida provavelmente seja o modo mais comum de infestação (**Figura 25.25**), mas a ingestão da carne de animais que se alimentam de lixo (ursos, p. ex.) é uma causa crescente de surtos. Alguns casos humanos de triquinelose ocorreram na França devido à carne de cavalo infectada nos Estados Unidos e exportada para restaurantes. Os casos graves podem ser fatais – algumas vezes em apenas alguns dias.

Qualquer carne moída pode estar contaminada por máquinas previamente usadas para moer carne contaminada. Ingerir salsichas ou carne de hambúrguer mal-passadas é um hábito arriscado. Uma pessoa adquiriu triquinelose por roer as unhas após manusear carne de porco infectada. O congelamento de carnes de suínos por períodos prolongados (p. ex., –23°C por 10 dias) mata a *Trichi-*

* N. de T. A ascaridíase também é muito comum em outras partes do mundo, como o Brasil.

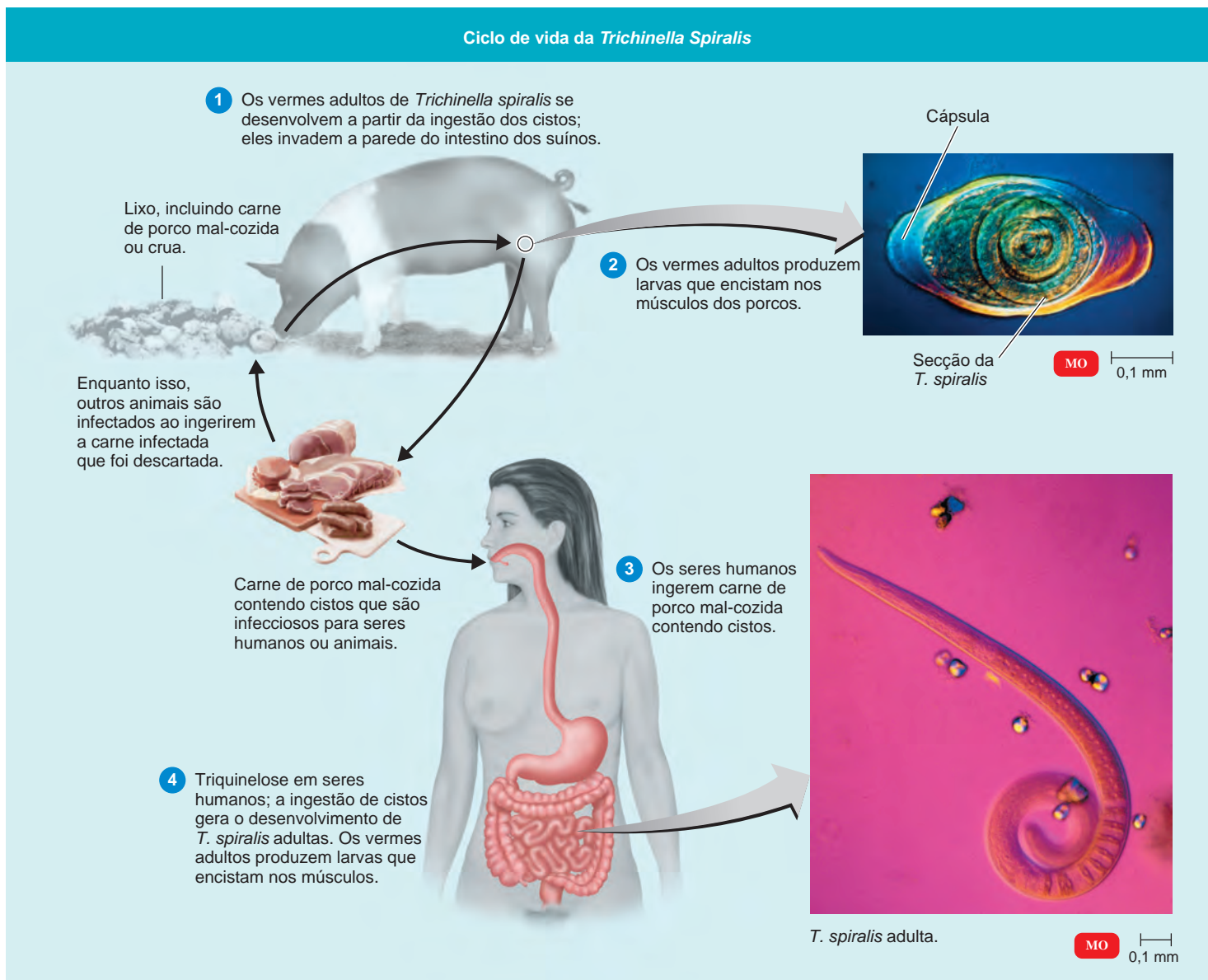



Figura 25.25 **Ciclo de vida da *Trichinella spiralis*, o agente causador da triquinelose.**

P **Qual é o veículo mais comum de infecção por *T. spiralis*?**

nella, entretanto algumas espécies encontradas em animais selvagens, como *Trichinella nativa*, não são mortas por congelamento.

Nos músculos de hospedeiros como os suínos, as larvas de *T. spiralis* são encistadas na forma de vermes curtos, com cerca de 1 mm de comprimento. Quando a carne de um animal infectado é ingerida por seres humanos, a parede do cisto é removida por ação digestiva no intestino. O organismo então amadurece para a forma adulta. Os vermes adultos passam somente cerca de uma semana na mucosa intestinal e produzem larvas que invadem os tecidos. No final, as larvas encistadas se estabelecem no músculo (os sítios comuns incluem o diafragma e os músculos do olho), onde são pouco visíveis em amostras de biópsia.

Os sintomas da triquinelose incluem febre, edema em torno dos olhos e desconforto gastrintestinal. Pequenas hemorragias sob as unhas são observadas com frequência. Amostras de biópsia, bem como uma série de testes sorológicos, podem ser usadas no diagnóstico. Recentemente, um teste sorológico ELISA que detecta o parasita na carne foi desenvolvido. O tratamento consiste na administração de mebendazol para matar os vermes intestinais e corticosteroide para reduzir a inflamação.

Nos últimos 10 anos, o número de casos relatados anualmente nos Estados Unidos variou de 16 a 129. Óbitos são raros e, na maioria dos anos, não há nenhum relatado.

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 705)

1. As doenças do sistema digestório são a segunda causa de adoecimento mais comum nos Estados Unidos.
2. As doenças do sistema digestório geralmente resultam da ingestão de micro-organismos e suas toxinas no alimento e na água.
3. O ciclo de transmissão fecal-oral pode ser interrompido pela disposição correta do esgoto, a desinfecção da água potável e o preparo e o armazenamento corretos do alimento.

Estrutura e função do sistema digestório (p. 706)

1. O trato gastrintestinal (GI), ou canal alimentar, consiste em boca, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso.
2. No trato GI, com o auxílio mecânico e químico das estruturas acessórias, as moléculas grandes de alimento são degradadas em moléculas menores, que podem ser transportadas através do sangue ou da linfa para as células.
3. As fezes, os resíduos sólidos da digestão, são eliminadas através do ânus.

Microbiota normal do sistema digestório

(p. 706, 707)

1. Um grande número de bactérias coloniza a boca.
2. O estômago e o intestino delgado têm poucos micro-organismos residentes.
3. As bactérias do intestino grosso ajudam a degradar o alimento e sintetizar as vitaminas.
4. Até 40% da massa fecal são compostos de células microbianas.

Doenças bacterianas da boca (p. 707-710)

Cáries dentárias (decaimento dentário) (p. 707-709)

1. As cáries dentárias começam quando o esmalte e a dentina dos dentes sofrem erosão e a polpa é exposta à infecção bacteriana.
2. *Streptococcus mutans*, encontrado na boca, usa sacarose para formar dextrana a partir da glicose e ácido lático a partir da frutose.
3. As bactérias aderem-se aos dentes e produzem dextrana adesiva, formando a placa dentária.
4. O ácido produzido durante a fermentação dos carboidratos destrói o esmalte do dente no local da placa.
5. Os bastonetes gram-positivos e as bactérias filamentosas podem penetrar na dentina e na polpa.
6. Os carboidratos como amido, manitol, sorbitol e xilitol não são usados pelas bactérias cariogênicas para produzir dextrana, e não promovem a cárie dentária.
7. As cáries são prevenidas pela diminuição da ingestão de sacarose e pela remoção física da placa.

Doença periodontal (p. 709)

8. Cáries do cemento e gengivite são causadas por estreptococos, actinomicetos e bactérias anaeróbicas gram-negativas.
9. A doença crônica da gengiva (periodontite) pode causar destruição óssea e perda dos dentes; a periodontite se deve a uma resposta inflamatória a uma série de bactérias que crescem nas gengivas.
10. A gengivite ulcerativa necrosante aguda é causada pela *Prevotella intermedia*.

Doenças bacterianas do sistema digestório inferior (p. 710-721)

1. Uma infecção gastrintestinal é causada pelo crescimento de um patógeno nos intestinos.
2. O período de incubação, o tempo necessário para o crescimento das células bacterianas e seus produtos para produzir sintomas, varia de 12 horas a 2 semanas. Os sintomas de infecção geralmente incluem febre.
3. Uma intoxicação bacteriana resulta da ingestão de toxinas bacterianas pré-formadas.
4. Os sintomas surgem de 1 a 48 horas após a ingestão da toxina. A febre normalmente não é um sintoma de intoxicação.
5. As infecções e intoxicações causam diarreia, disenteria ou gastrenterite.
6. Essas condições geralmente são tratadas com reposição de líquidos e eletrólitos.

Intoxicação alimentar estafilocócica (enterotoxicose estafilocócica) (p. 711, 712)

7. A intoxicação alimentar estafilocócica é causada pela ingestão de uma enterotoxina produzida em alimentos armazenados de modo incorreto.
8. *S. aureus* é inoculado nos alimentos durante o preparo. As bactérias crescem e produzem enterotoxina no alimento armazenado em temperatura ambiente.
9. A fervura por 30 minutos não é suficiente para desnaturar a exotoxina.
10. Os alimentos com alta pressão osmótica e aqueles que não são cozidos imediatamente antes do consumo são mais frequentemente a fonte da enterotoxicose estafilocócica.
11. A identificação laboratorial de *S. aureus* de alimentos isolados é usada para detectar a fonte da contaminação.

Shigelose (disenteria bacilar) (p. 712)

12. A shigelose é causada por uma das quatro espécies de *Shigella*.
13. Os sintomas incluem sangue e muco nas fezes, cólicas abdominais e febre. As infecções por *S. dysenteriae* resultam em ulceração da mucosa intestinal.

Salmonelose (gastrenterite por *Salmonella*) (p. 712-714)

14. A salmonelose, ou gastrenterite por *Salmonella*, é causada por muitos sorovares de *Salmonella enterica*.
15. Os sintomas incluem náuseas, dor abdominal e diarreia e iniciam de 12 a 36 horas após a ingestão de grandes números de *Salmonella*. Choque séptico pode ocorrer em lactentes e idosos.
16. A mortalidade é inferior a 1%, e a recuperação pode resultar em um estado de portador.
17. O cozimento dos alimentos geralmente mata as salmonelas.

Febre tifoide (p. 714-716)

18. *Salmonella typhi* causa a febre tifoide; as bactérias são transmitidas pelo contato com fezes humanas.
19. Febre e mal-estar ocorrem após um período de incubação de duas semanas. Os sintomas duram de 2 a 3 semanas.
20. *S. typhi* se aloja na vesícula biliar dos portadores.
21. A febre tifoide é tratada com quinolonas e cefalosporinas; vacinas estão disponíveis para pessoas expostas a alto risco.

Cólera (p. 716, 717)

22. *Vibrio cholera* O:1 e O:139 produzem uma exotoxina que altera a permeabilidade da membrana da mucosa intestinal; os vômitos e a diarreia resultantes causam perda dos líquidos corporais.

23. Os sintomas duram poucos dias. A cólera não tratada tem uma taxa de mortalidade de 50%.

Vibriões não coléricos (p. 717)

24. A ingestão de outros sorotipos de *V. cholerae* pode resultar em diarreia leve.
25. A gastrenterite por *Vibrio* pode ser causada por *V. parahaemolyticus e V. vulnificus*.
26. Essas doenças são contraídas pela ingestão de crustáceos ou moluscos contaminados.

Gastrenterite por *Escherichia coli* (p. 717, 718)

27. A diarreia dos viajantes pode ser causada por linhagens enterotoxigênicas ou enteroinvasivas de *E. coli*.
28. A doença geralmente é autolimitada e não requer quimioterapia.
29. *E. coli* entero-hemorrágica, como a *E. coli* O157:H7, produz toxinas Shiga, que causam inflamação e sangramento do colo, incluindo colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica.
30. As toxinas Shiga podem afetar os rins, causando síndrome hemolítico-urêmica.

Gastrenterite por *Campylobacter* (p. 718)

31. *Campylobacter* é a segunda causa mais comum de diarreia nos Estados Unidos.
32. *Campylobacter* é transmitido no leite de vaca.

Úlcera péptica por *Helicobacter* (p. 718-720)

33. *Helicobacter pylori* produz amônia, que neutraliza o ácido do estômago; as bactérias colonizam a mucosa do estômago e causam úlcera péptica.
34. O bismuto e vários antibióticos podem ser úteis no tratamento da úlcera péptica.

Gastrenterite por *Yersinia* (p. 720)

35. *Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis* são transmitidas no leite e na carne.
36. *Yersinia* pode crescer em temperaturas de refrigeração.

Gastrenterite por *Clostridium perfringens* (p. 720)

37. *C. perfringens* causa uma gastrenterite autolimitada.
38. Os endosporos sobrevivem ao aquecimento e germinam quando os alimentos (geralmente carnes) são armazenados em temperatura ambiente.
39. A exotoxina produzida quando as bactérias crescem nos intestinos é responsável pelos sintomas.
40. O diagnóstico tem como base o isolamento e a identificação das bactérias em amostras de fezes.

Diarreia associada ao *Clostridium difficile* (p. 720)

41. O crescimento de *C. difficile* em seguida a uma terapia de antibióticos pode resultar em quadros de diarreia leve ou colite.
42. Esta condição normalmente está associada com pacientes hospitalizados e pacientes residentes em clínicas de repouso.

Gastrenterite por *Bacillus cereus* (p. 720, 721)

43. A ingestão de alimentos contaminados com o saprófita de solo *Bacillus cereus* pode resultar em diarreia, náuseas e vômitos.

Doenças virais do sistema digestório

(p. 721-729)

Caxumba (p. 721)

1. O vírus da caxumba entra e sai do corpo através do trato respiratório.
2. Cerca de 16 a 18 dias após a exposição, o vírus causa inflamação das glândulas parótidas, febre e dor durante a deglutição. Cerca de 4 a 7 dias depois, pode ocorrer orquite.
3. Após o início dos sintomas, o vírus é encontrado no sangue, na saliva e na urina.
4. Encontra-se disponível uma vacina contra o sarampo, a caxumba e a rubéola (MMR).

Hepatite (p. 721-728)

5. A inflamação do fígado é denominada hepatite. Os sintomas incluem perda de apetite, mal-estar, febre e icterícia.
6. As causas virais da hepatite incluem os vírus hepáticos, além do vírus Epstein-Barr (EBV) e o citomegalovírus (CMV).

Hepatite A (p. 721 – 723)

7. O vírus da hepatite A (HAV) causa hepatite A; pelo menos 50% de todos os casos são subclínicos.
8. O HAV é ingerido em alimento ou água contaminados, se multiplica nas células da mucosa intestinal e se dissemina para o fígado, os rins e o baço via sangue.
9. O vírus é eliminado nas fezes.
10. O período de incubação é de 2 a 6 semanas; o período de doença é de 2 a 21 dias, e a recuperação se completa em 4 a 6 semanas.
11. Existe uma vacina disponível. A imunização passiva pode fornecer proteção temporária.

Hepatite B (p. 723-726)

12. O vírus da hepatite B (HBV) causa a hepatite B, que frequentemente é séria.
13. O HBV é transmitido por transfusões de sangue, seringas contaminadas, saliva, suor, leite materno e sêmen.
14. O sangue é testado para o HBsAg antes de ser usado em transfusões.
15. O período médio de incubação é de três meses; a recuperação geralmente é completa, mas alguns pacientes desenvolvem uma infecção crônica ou tornam-se portadores.
16. Existe uma vacina disponível contra o HBsAg.

Hepatite C (p. 726)

17. O vírus da hepatite C (HCV) é transmitido pelo sangue.
18. O período de incubação é de 2 a 22 semanas; a doença geralmente é leve, mas alguns pacientes desenvolvem hepatite crônica.
19. O sangue é testado para anticorpos anti-HCV antes de ser usado em transfusões.

Hepatite D (hepatite delta) (p. 726, 727)

20. O vírus da hepatite D (HDV) possui RNA circular de fita simples e utiliza o HBsAg como revestimento.

Hepatite E (p. 727, 728)

21. O vírus da hepatite E (HEV) é disseminado por via fecal-oral.

Outros tipos de hepatite (p. 728)

22. Existem evidências da existência dos tipos de hepatite F e G.

Gastrenterite viral (p. 728, 729)

23. A gastrenterite viral é mais frequentemente causada por um rotavírus ou por um norovírus.
24. O período de incubação é de 2 a 3 dias; a diarreia tem duração de até uma semana.

Doenças fúngicas do sistema digestório (p. 729, 730)

1. Micotoxinas são toxinas produzidas por alguns fungos.
2. As micotoxinas afetam o sangue, o sistema nervoso, os rins ou o fígado.

Intoxicação por ergot (p. 730)

3. A intoxicação por ergot, ou ergotismo, é causada pela micotoxina produzida por *Claviceps purpurea*.
4. Os grãos de cereais são os vegetais mais frequentemente contaminados com a micotoxina de *Claviceps*.

Intoxicação por aflatoxina (p. 730)

5. A aflatoxina é uma micotoxina produzida por *Aspergillus flavus*.
6. O amendoim é a cultura mais frequentemente contaminada com a aflatoxina.

Doenças protozoóticas do sistema digestório (p.730-732)

Giardíase (p. 730, 731)

1. *Giardia lamblia* cresce nos intestinos de seres humanos e animais selvagens, sendo transmitida pela água contaminada.
2. Os sintomas da giardíase são mal-estar, náuseas, flatulência, fraqueza e cólicas abdominais que persistem por semanas.

Criptosporidiose (p. 731)

3. *Cryptosporidium hominis* causa diarreia; em pacientes imunossuprimidos, a doença prolonga-se por meses.
4. O patógeno é transmitido pela água contaminada.

Infecção diarreica por *Cyclospora* (p. 731)

5. *C. cayetanensis* causa diarreia; o protozoário foi identificado pela primeira vez em 1993.
6. Ele é transmitido por produtos vegetais contaminados.

Disenteria amebiana (amebíase) (p. 731, 732)

7. A disenteria amebiana é causada pela *Entamoeba histolytica* crescendo no intestino grosso.
8. A ameba se alimenta das hemácias e dos tecidos do trato GI. As infecções graves resultam em abscessos.

Doenças helmínticas do sistema digestório (p. 732-737)

Teníases (p. 732, 733)

1. As tênias são contraídas pelo consumo de carne mal-cozida de gado, porco ou peixe, contendo larvas encistadas (cisticercos).
2. O escólex se fixa à mucosa intestinal dos seres humanos (o hospedeiro definitivo) e amadurece em uma tênia adulta.
3. Os ovos são disseminados nas fezes e devem ser ingeridos por um hospedeiro intermediário.
4. As tênias adultas podem passar despercebidas em um ser humano.
5. A neurocisticercose em seres humanos ocorre quando a larva da tênia do porco encista em seres humanos.

Hidatidose (p. 733, 734)

6. Os seres humanos infectados com a tênia *Echinococcus granulosus* podem ter cistos hidáticos em seus pulmões ou em outros órgãos.
7. Cães e lobos normalmente são os hospedeiros definitivos, e ovelhas e cervos são os hospedeiros intermediários do *E. granulosus*.

Nematódeos (p. 734-737)

Oxiurose (p. 734, 735)

8. Os seres humanos são os hospedeiros definitivos do verme oxiúro *Enterobius vermicularis*.
9. A doença é adquirida ingerindo ovos de *Enterobius*.

Ancilostomíase (p. 735, 736)

10. As larvas de ancilóstomos penetram através da pele e migram até o intestino, para amadurecerem em adultos.
11. No solo, as larvas de ancilóstomos eclodem de ovos disseminados nas fezes.

Ascaridíase (p. 736)

12. Os adultos de *Ascaris lumbricoides* vivem no intestino humano.
13. A doença é adquirida ingerindo ovos de *Ascaris*.

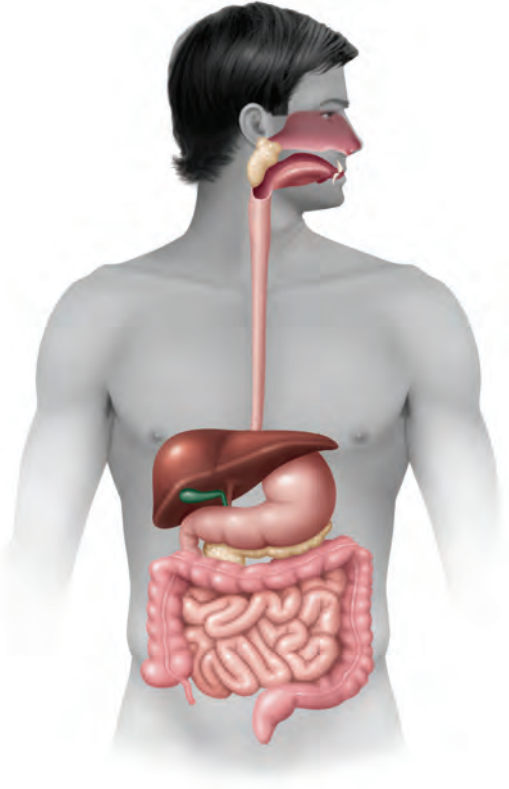
Triquinelose (p. 736, 737)

14. As larvas de *Trichinella spiralis* encistam-se nos músculos dos seres humanos e de outros mamíferos, causando triquinelose.
15. Os ancilóstomos são contraídos pela ingestão de carnes mal-cozidas contendo larvas.
16. As fêmeas adultas amadurecem no intestino e colocam ovos; as novas larvas migram para invadir os músculos.
17. Os sintomas incluem febre, edema em torno dos olhos e desconforto gastrintestinal.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Identifique o sítio colonizado pelos seguintes organismos: *Equinococcus granulosus, Enterobius vermiculares, Giardia, Helicobacter pylori,* vírus da hepatite B, vírus da caxumba, rotavírus, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus mutans*, *Trichinella spiralis*.

2. Complete a tabela a seguir:

Doença	Agente causal	Alimento suspeito	Sintomas	Tratamento
Intoxicação alimentar estafilocócica				
Shigelose				
Salmonelose				
Cólera				
Diarreia dos viajantes				

3. Complete a tabela a seguir:

Agente causal	Alimento suspeito	Tratamento	Prevenção
Vibrio parahaemolyticus			
V. vulnificus			
E. coli enterotoxigênica			
E. coli entero-hemorrágica			
Campylobacter jejuni			
Yersinia enterocolitica			
Clostridium perfringens			
Bacillus cereus			

4. *E. coli* é parte da microbiota normal intestinal e pode causar gastrenterite. Explique por que essa espécie bacteriana é benéfica e danosa.
5. Defina micotoxina e dê um exemplo de uma delas.
6. Explique em que as seguintes doenças diferem e em que são similares: giardíase, disenteria amebiana, infecção diarreica por *Cyclospora* e criptosporidiose.
7. Diferencie entre os seguintes fatores de intoxicação bacteriana e infecção bacteriana: pré-requisitos, agente causal, início, duração dos sintomas e tratamento.
8. Complete a tabela a seguir:

Doença	Agente causal	Alimentos suspeitos	Tratamento	Prevenção
Caxumba				
Hepatite A				
Hepatite B				
Gastrenterite viral				

9. Veja o diagrama do ciclo de vida da tênia humana e da trichinelose. Indique os estágios no ciclo de vida que poderiam ser facilmente interrompidos para prevenir as doenças.

Múltipla escolha

1. Todos os seguintes podem ser transmitidos por fontes de água de recreação (isto é, para natação), *exceto*
   a. Disenteria amebiana.
   b. Cólera.
   c. Giardíase.
   d. Hepatite B.
   e. Salmonelose.
2. Um paciente com náuseas, vômitos e diarreia cinco horas após se alimentar mais provavelmente tem
   a. Shigelose.
   b. Cólera.
   c. Gastrenterite por *E. coli*.
   d. Salmonelose.
   e. Intoxicação alimentar estafilocócica.
3. O isolamento de *E. coli* de uma amostra de fezes é uma prova diagnóstica de que o paciente tem
   a. Cólera.
   b. Gastrenterite por *E. coli*.
   c. Salmonelose.

d. Febre tifoide.
e. Nenhuma das alternativas.

4. As úlceras gástricas são causadas por
a. Ácido do estômago.
b. *He1icobacter pylori*.
c. Alimentos picantes.
d. Alimentos ácidos.
e. Estresse.

5. O exame microscópico da cultura fecal de um paciente mostra bactérias em forma de vírgula. Essas bactérias requerem de 2 a 4% de NaCl para crescer. As bactérias provavelmente pertencem ao gênero
a. *Campylobacter*.
b. *Escherichia*.
c. *Salmonella*.
d. *Shigella*.
e. *Vibrio*.

6. Uma epidemia recente de cólera no Peru teve todas as seguintes características. Qual delas levou às outras?
a. Ingestão de peixe cru.
b. Contaminação da água por esgoto.
c. Pesca em água contaminada.
d. *Vibrio* no intestino do peixe.
e. Inclusão de intestinos de peixe no alimento.

Use as seguintes opções para responder às questões 7 a 10:
a. *Campylobacter*.
b. *Cryptosporidium*.
c. *Escherichia*.
d. *Salmonella*.
e. *Trichinella*.

7. A identificação é baseada na observação de oocistos nas fezes.
8. Um sintoma característico da doença causada por este micro-organismo é o edema em torno dos olhos.
9. A observação microscópica de uma amostra de fezes revela células helicoidais gram-negativas.
10. Esse micróbio frequentemente é transmitido aos seres humanos por meio de ovos crus.

Pensamento crítico

1. Por que uma infecção humana de triquinelose é considerada o fim para o parasita?
2. Complete a seguinte tabela:

Doença	Condições necessárias para o crescimento microbiano	Base do diagnóstico	Prevenção
Intoxicação alimentar estafilocócica			
Salmonelose			
Diarreia por *Clostridium difficile*			

3. Combine os seguintes alimentos com o gênero de micro-organismo mais provável de contaminar cada um:

Coluna A	Coluna B
_______ a. Carne bovina	1. *Vibrio*
_______ b. Embutidos	2. *Campylobacter*
_______ c. Frango	3. *E. coli* O157:H7
_______ d. Leite	4. *Listeria*
_______ e. Ostras	5. *Salmonella*
_______ f. Carne suína	6. *Trichinella*

Que doença cada micróbio causa? Como essas doenças podem ser prevenidas?

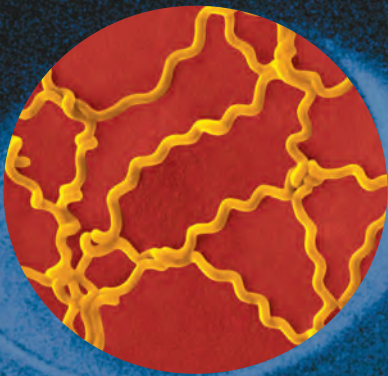
4. Que doenças do trato gastrintestinal podem ser adquiridas nadando em piscinas ou lagos? Por que essas doenças provavelmente não são adquiridas ao nadar no oceano?

Aplicações clínicas

1. Em Nova York, em 26 de abril, o paciente A foi hospitalizado com um histórico de dois dias de diarreia. Uma investigação revelou que o paciente B teve início de diarreia aquosa em 22 de abril. Em 24 de abril, outras três pessoas (os pacientes C, D e E) tiveram um início de diarreia. Todos os três apresentaram títulos de anticorpo anti-*Vibrio* ≥ 640. No Equador, em 20 de abril, o paciente B comprou caranguejos que foram fervidos e descascados. Ele compartilhou a carne de caranguejo com duas pessoas (F e G) e então congelou o restante em um saco. O paciente A voltou a Nova York em 21 de abril com o saco de carne de caranguejo em sua valise. O saco foi colocado no freezer de um dia para outro e em 22 de abril foi descongelado em banho-maria, por 20 minutos. O caranguejo foi servido duas horas depois em forma de salada. Ele foi consumido durante um período de seis horas por A, C, D e E. Não adoeceram os indivíduos F e G. Qual é a etiologia dessa doença? Como foi transmitida, e como poderia ter sido prevenida?
2. Os 2.130 estudantes e funcionários de uma escola pública desenvolveram doença diarreica em 2 de abril. O refeitório serviu frango naquele dia. Em 1º de abril, parte do frango foi colocada em panelas cheias de água e cozida em um forno por duas horas, com o ajuste de temperatura em 177°C. O forno foi desligado e o frango foi deixado de um dia para outro no forno aquecido. Os restos do frango foram cozidos por duas horas no vapor e então deixados de um dia para outro no menor ajuste possível (43°C). Dois sorotipos de um bastonete gram-negativo, citocromo-oxidase-negativo, lactose-negativo foram isolados de 32 pacientes. Qual é o patógeno? Como esse surto poderia ter sido prevenido?
3. Um homem de 31 anos ficou febril quatro dias após chegar a um hotel de férias em um resort em Idaho. Durante sua estada, ele fez refeições em dois restaurantes que não pertenciam ao hotel. No hotel, ele bebeu refrigerantes com gelo, usou a banheira de hidromassagem e saiu para pescar. O hotel é suprido por um poço que foi escavado há três anos. O homem foi para o hospital quando desenvolveu vômitos e diarreia sanguinolenta. Bactérias gram-negativas e lactose-negativas foram cultivadas nas fezes. O paciente se recuperou após receber líquidos intravenosos. Que micro-organismo mais provavelmente causou os sintomas? Como essa doença é transmitida? Qual é a fonte mais provável da infecção, e como você verificaria a fonte?
4. De três a cinco dias após fazerem a ceia de Ação de Graças em um restaurante, 112 pessoas apresentaram febre e gastrenterite. Toda a comida foi consumida, com exceção de cinco saquinhos para o “cachorro”. Análises bacteriológicas do conteúdo dos saquinhos (que continham peru assado, molho de miúdos e purê de batatas) mostraram a mesma bactéria que foi isolada dos pacientes. O molho foi preparado com miúdos de 43 perus que haviam sido refrigerados por três dias antes da ceia ser preparada. Os miúdos não cozidos foram moídos em um liquidificador e misturados a um caldo de carne aquecido. O molho não foi fervido novamente e foi armazenado sob temperatura ambiente durante o Dia de Ação de Graças. Qual foi a fonte da doença? Qual é o provável agente etiológico? Trata-se de uma infecção ou de uma intoxicação?

26 Doenças Microbianas dos Sistemas Urinário e Reprodutivo

O **sistema urinário** é composto de órgãos que regulam a composição química e o volume do sangue; como resultado, excreta principalmente nitrogênio e água. Por fornecer uma abertura ao ambiente externo, o sistema urinário é suscetível às infecções dos contatos externos. As membranas mucosas que recobrem o sistema urinário são úmidas e, comparadas à pele, mais suscetíveis ao crescimento bacteriano.

O **sistema reprodutivo** compartilha muitos órgãos com o sistema urinário. Sua função é produzir gametas para propagar as espécies e, nas fêmeas, dar suporte e garantir o desenvolvimento embrionário e do feto. Do mesmo modo que o sistema urinário, este sistema mantém uma abertura ao ambiente externo, sendo então suscetível às infecções, uma vez que o contato sexual pode promover a troca de patógenos microbianos entre os indivíduos. Não é surpreendente, então, que certos patógenos tenham se adaptado a este ambiente e ao modo de transmissão sexual. Frequentemente essa adaptação ocorre devido à incapacidade do patógeno de sobreviver em ambientes mais rigorosos.

SOB O MICROSCÓPIO

Leptospira interrogans. Este patógeno, que causa a leptospirose, tem uma morfologia similar à espiroqueta que causa a sífilis.

P&R

A *Leptospira interrogans* e a espiroqueta que causa a sífilis penetram profundamente nos tecidos dos órgãos. O que em sua morfologia facilita este processo?

Procure pela resposta neste capítulo.

Estrutura e função do sistema urinário

OBJETIVO DO APRENDIZADO

26-1 Listar as características antimicrobianas do sistema urinário

O **sistema urinário** consiste em dois *rins*, dois *ureteres*, uma *bexiga urinária* e uma *uretra* (**Figura 26.1**). Certos dejetos, coletivamente denominados *urina*, são removidos do sangue à medida que ele circula pelos rins. A urina passa através dos ureteres até a bexiga, onde é estocada antes de ser eliminada do corpo através da uretra. Na mulher, a uretra conduz somente a urina para o exterior. No homem, a uretra é um conduto comum para urina e fluido seminal.

Onde os ureteres entram na bexiga, válvulas fisiológicas impedem o fluxo reverso da urina para os rins. Este mecanismo ajuda a defender os rins das infecções do trato urinário inferior. Além disso, a acidez normal da urina tem algumas propriedades antimicrobianas. A ação do fluxo urinário durante a excreção da urina também tende a remover micro-organismos potencialmente infecciosos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O pH da urina facilita o crescimento da maioria das bactérias? **26-1**

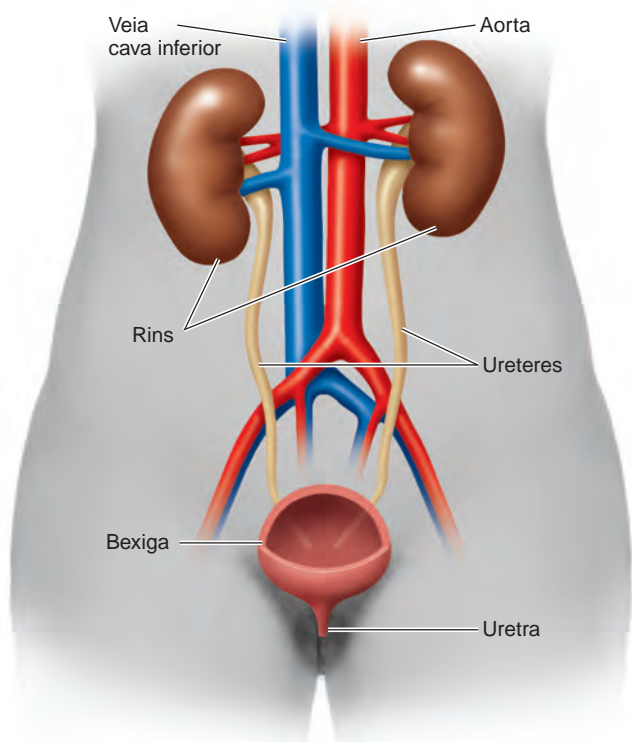



Figura 26.1 **Órgãos do sistema urinário humano feminino.**

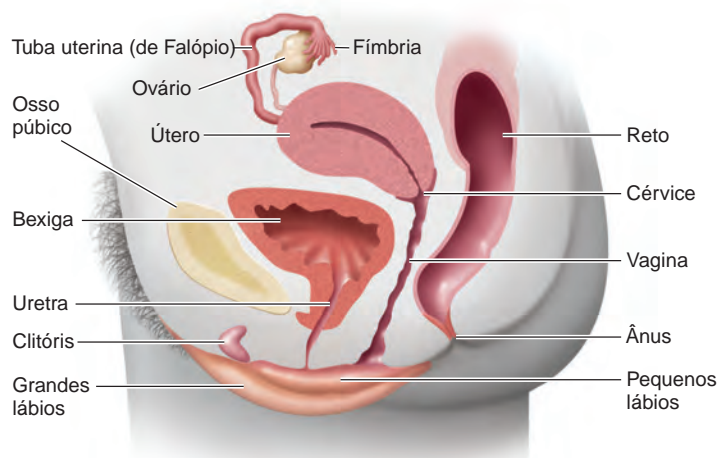
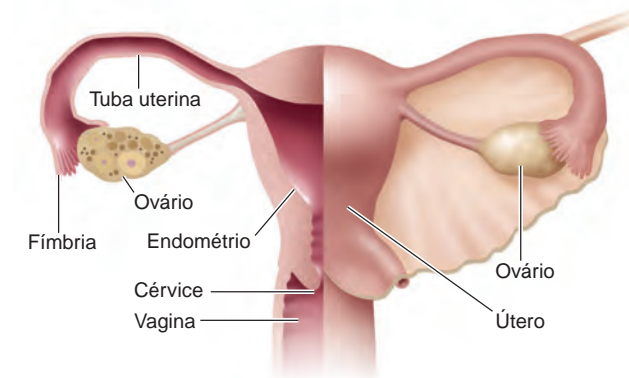
P **Que características anatômicas do sistema urinário ajudam a prevenir a colonização por micróbios?**

(a) Vista de uma secção lateral da pelve feminina, mostrando os órgãos reprodutivos.

(b) Vista frontal dos órgãos reprodutivos femininos, com a tuba uterina e o ovário à esquerda no desenho seccionado. As fímbrias se locomovem para criar o movimento fluido que move o óvulo ao longo da tuba uterina.

Figura 26.2 **Órgãos reprodutivos femininos.**

P **Onde se encontra a microbiota normal no sistema reprodutivo feminino?**

Estrutura e função do sistema reprodutivo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

26-2 Identificar as portas de entrada dos micróbios nos sistemas reprodutivos feminino e masculino.

O **sistema reprodutivo feminino** consiste em dois *ovários*, duas *tubas uterinas* (*Falópio*), um *útero*, incluindo a *cérvice*, a *vagina* e a *genitália externa* (**Figura 26.2**). Os ovários produzem os hormônios sexuais femininos e os óvulos. Quando um óvulo é liberado durante o processo de ovulação, ele entra na tuba uterina, onde a fertilização pode ocorrer se houver espermatozoides viáveis presen-

Figura 26.3 Órgãos reprodutivo e urinário masculinos. Vista lateral seccionada da pelve masculina.

P Quais fatores protegem os sistemas reprodutivo e urinário masculinos das infecções?

tes. O óvulo fertilizado (zigoto) desce pela tuba e entra no útero. Ele implanta-se na parede interna do útero e permanece ali enquanto se desenvolve em um embrião e, mais tarde, em um feto. A genitália externa (*vulva*) inclui o clitóris, os lábios e as glândulas que produzem uma secreção de lubrificação durante a cópula.

O **sistema reprodutivo masculino** consiste em dois *testículos*, um sistema de *ductos*, *glândulas acessórias* e o *pênis* (**Figura 26.3**). Os testículos produzem hormônios sexuais masculinos e esperma. Para serem liberadas do corpo, as células espermáticas passam por uma série de ductos: o epidídimo, o canal deferente, o canal ejaculatório e a uretra.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Observe a Figura 26.2. Um micro-organismo penetrando o sistema reprodutivo feminino (o útero, etc.) necessariamente também penetra a bexiga, causando cistite? **26-2**

Microbiota normal dos sistemas urinário e reprodutivo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

26-3 Descrever a microbiota normal do trato urinário superior, da uretra masculina e da uretra e vagina femininas.

A urina normal é estéril, mas pode se tornar contaminada com a microbiota da pele próxima ao final de sua passagem através da uretra. Então, a urina coletada diretamente da bexiga tem um menor número de micróbios contaminantes que a urina eliminada normalmente.

As bactérias predominantes na vagina são os lactobacilos. Estas bactérias produzem o ácido lático, que mantém o pH acídico da vagina (3,8 a 4,5), inibindo o crescimento da maioria dos outros micro-organismos. A maior parte dos lactobacilos da vagina produz peróxido de hidrogênio, que também inibe o crescimento de outras bactérias. O estrógeno (hormônio sexual) promove o crescimento dos lactobacilos pelo aumento da produção de glicogênio pelas células do epitélio vaginal. O glicogênio é rapidamente quebrado em glicose, que os lactobacilos metabolizam em ácido lático.

Outras bactérias, como os estreptococos, vários anaeróbicos e alguns gram-negativos, também são encontradas na vagina. O fungo leveduriforme *Candida albicans* (veja as páginas 758 e 759) é parte da microbiota normal de 10 a 25% das mulheres, embora elas sejam assintomáticas.

A gravidez e a menopausa frequentemente são associadas a altas taxas de infecções no trato urinário. A razão é que os níveis de estrógeno estão baixos, resultando em uma baixa população de lactobacilos e, assim, uma menor acidez vaginal.

A uretra masculina normalmente é estéril, exceto por contaminações microbianas próximas à abertura externa.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é a associação entre o estrógeno e a microbiota vaginal? **26-3**

DOENÇAS DO SISTEMA URINÁRIO

O sistema urinário normalmente contém poucos micróbios, mas está sujeito a infecções oportunistas que podem ser muito problemáticas. Quase todas as infecções são bacterianas, embora ocasionalmente infecções por patógenos como esquistossomos, protozoários e fungos possam ocorrer. Além disso, como veremos neste capítulo, doenças sexualmente transmissíveis frequentemente afetam o sistema urinário, bem como o sistema reprodutivo.

Doenças bacterianas do sistema urinário

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

26-4 Descrever os modos de transmissão das infecções dos sistemas reprodutivo e urinário.

26-5 Listar os micro-organismos que causam cistite, pielonefrite e leptospirose, e citar os fatores predisponentes para estas doenças.

As infecções do sistema urinário são iniciadas mais frequentemente por uma inflamação da uretra, ou *uretrite*. A infecção da bexiga é denominada *cistite*, e a infecção dos ureteres, *ureterite*. O perigo mais significativo das infecções do trato urinário inferior é que elas podem migrar para os ureteres e afetar os rins, causando a *pielonefrite*. Ocasionalmente, os rins são afetados por infecções bacterianas sistêmicas, como a *leptospirose*. Os patógenos causadores desta doença são encontrados na urina excretada.

Infecções bacterianas do sistema urinário normalmente são ocasionadas por micróbios que penetram no sistema a partir de fontes externas. Nos Estados Unidos ocorrem cerca de 7 milhões de infecções do sistema urinário a cada ano. Cerca de 900.000 casos são de origem nosocomial, e 90% deles estão associados ao uso de cateteres urinários. Devido à proximidade do ânus com a abertura urinária, as bactérias intestinais predominam nas infecções do sistema urinário. A maioria das infecções urinárias é causada por *Escherichia coli*. Infecções por *Pseudomonas*, devido a sua resistência natural aos antibióticos, são especialmente problemáticas.

Cistite

A **cistite** é uma inflamação comum da bexiga em mulheres. Os sintomas incluem *disúria* (dificuldade, dor e urgência para urinar) e piúria.

A uretra feminina tem menos de 5 cm de comprimento, e os micro-organismos a atravessam facilmente. Ela é bem mais próxima do ânus e de seus contaminantes intestinais que a uretra masculina. Essas considerações refletem o fato de que a taxa de infecção do sistema urinário em mulheres é cerca de oito vezes maior que em homens. Em ambos os sexos, a maioria dos casos é de infecção por *E. coli*, que pode ser identificada por cultivo em meios diferenciais como o ágar de MacConkey (de maneira interessante, a ingestão diária de suco de oxicoco [*cranberry*] previne a adesão da *E. coli* às células epiteliais). Outra causa bacteriana frequente de infecção é o *Staphylococcus saprophyticus* coagulase-negativo.

Como regra geral, uma amostra de urina com mais de 100 unidades formadoras de colônia (CFUs, de *colony forming units*) por mL de patógenos potenciais (como coliformes) de uma paciente com cistite é considerada significativa. O diagnóstico também deve incluir um teste de urina positivo para *esterase leucocitária* (LE, de *leukocyte esterase*), uma enzima produzida por neutrófilos, que indica uma infecção ativa. A droga trimetoprim-sulfametoxazol normalmente reverte os casos de cistite rapidamente. Os antibióticos fluoroquinolona ou ampicilina frequentemente são utilizados com sucesso, se houver resistência à droga.

Pielonefrite

Em 25% dos casos não tratados, a cistite pode progredir para **pielonefrite**, uma inflamação de um ou de ambos os rins. Os sintomas incluem febre e dor nos flancos ou nas costas. No sexo feminino, é frequente a complicação do trato urinário inferior. O agente envolvido em cerca de 75% dos casos é a *E. coli*. A pielonefrite geralmente resulta em bacteremia; culturas sanguíneas e uma coloração de Gram da urina para bactérias são úteis no diagnóstico. Uma amostra de urina contendo mais de 10.000 CFUs/mL e um teste de LE positivo indicam pielonefrite. Se a pielonefrite se tornar crônica, lesão tecidual se forma nos rins e bloqueia gravemente sua função. Devido à pielonefrite ser uma condição potencialmente letal, o tratamento normalmente começa com a administração prolongada de antibióticos de amplo espectro por via intravenosa, como cefalosporinas de segunda e terceira geração.

Leptospirose

A **leptospirose** é uma doença principalmente de animais domésticos e selvagens, mas que pode ser transmitida aos seres humanos e algumas vezes causar doenças graves nos rins e no fígado. O agente causador é a espiroqueta *Leptospira interrogans*, mostrada na **Figura 26.4**. A *Leptospira* possui uma forma característica: uma espiral extremamente fina, com cerca de 0,1 μm de diâmetro, enrolada de maneira tão constrita que dificilmente pode ser discernida em microscopia de campo escuro. Como outras espiroquetas, a *L. interrogans* (nomeada desta forma devido a sua extremidade em gancho que sugere uma interrogação) cora-se fracamente e é difícil de ser visualizada em microscópio óptico normal. Ela é um aeróbico obrigatório que pode crescer em uma variedade de meios artificiais suplementados com soro de coelho.

Os animais infectados com as espiroquetas disseminam a bactéria em sua urina por períodos prolongados. Os seres humanos tornam-se infectados pelo contato com água, solo e algumas vezes tecidos animais contaminados com urina infectada. Pessoas que têm ocupações que as expõem ao contato com animais ou produtos animais estão sob maior risco. Normalmente, o patógeno entra através de pequenas abrasões na pele ou nas membranas mucosas. Quando ingerido, ele penetra pela mucosa do trato digestório superior. Nos Estados Unidos, cães e ratos são a fonte mais comum

Figura 26.4 ***Leptospira interrogans*, a causa da leptospirose.** Esta foto mostra muitas destas espiroquetas densamente enoveladas.

P **De onde vem o nome *L. interrogans*?**

de infecção. Cães domésticos apresentam uma taxa considerável de infecção; mesmo quando imunizados, eles continuam a disseminar as leptospiras.

Após um período de incubação de 1 a 2 semanas, dores de cabeça e musculares, calafrios e febre aparecem abruptamente. Muitos dias depois, os sintomas agudos desaparecem e a temperatura retorna ao normal. Alguns dias depois, entretanto, um segundo episódio de febre pode ocorrer. Em um pequeno número de casos, os rins e o fígado tornam-se gravemente infectados (*doença de Weil*); a insuficiência renal é a causa mais comum de morte. A recuperação resulta em uma imunidade sólida, porém somente contra o sorovar envolvido. Normalmente há cerca de 50 casos relatados a cada ano nos Estados Unidos, mas, uma vez que os sintomas clínicos não são característicos, muitos casos provavelmente nunca são diagnosticados. Um estudo recente em uma clínica que atende a população urbana de baixa renda em uma grande cidade do leste norte-americano descobriu que até 16% dos pacientes testados foram positivos para a infecção.

A maioria dos casos de leptospirose é diagnosticada por um teste sorológico que é complicado e normalmente feito em laboratórios centrais de referência. Entretanto, muitos testes rápidos estão disponíveis para o diagnóstico preliminar. Além disso, o diagnóstico pode ser realizado pela amostragem de sangue, urina ou outros fluidos para o micro-organismo ou seu DNA. Doxiciclina (uma tetraciclina) é o antibiótico recomendado para o tratamento; entretanto, a administração de antibióticos em estágios tardios frequentemente é insatisfatória. Uma explicação para esse fato pode ser que as reações imunes são responsáveis pela patogênese nesse estágio.

As doenças do sistema urinário estão resumidas em Doenças em Foco 26.1.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O que é uretrite, uma infecção da uretra frequentemente anterior a outra infecção do sistema urinário? **26-4**

✓ Por que a *E. coli* é a causa mais comum de cistite, especialmente em mulheres? **26-5**

DOENÇAS DO SISTEMA REPRODUTIVO

Os micróbios que causam infecções do sistema reprodutivo normalmente são muito sensíveis ao estresse ambiental e requerem contato íntimo para a transmissão.

Doenças bacterianas do sistema reprodutivo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

26-6 Listar os agentes causadores, os sintomas, os métodos de diagnóstico e os tratamentos da gonorreia, da uretrite não gonocócica (UNG), da doença inflamatória pélvica (DIP), da sífilis, do linfogranuloma venéreo (LGV), do cancro e da vaginose bacteriana.

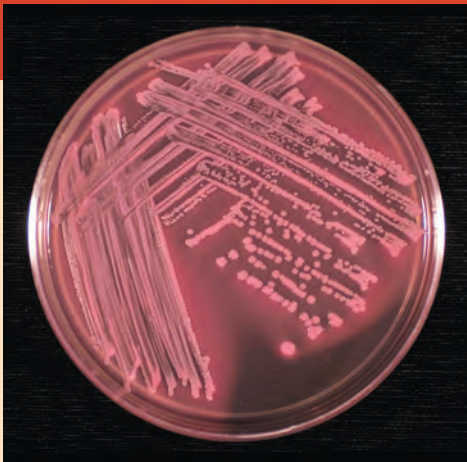
As doenças do sistema reprodutivo transmitidas pela atividade sexual têm sido denominadas **doenças sexualmente transmissíveis (DSTs)**. Nos últimos anos há um movimento no sentido de mudar esta terminologia para **infecções sexualmente transmissíveis (ISTs)**, uma mudança que já ocorreu na Europa. A razão é que o conceito de "doença" implica obviamente em sinais e sintomas, enquanto a maioria das pessoas infectadas pelos patógenos transmitidos sexualmente não apresenta sinais ou sintomas. O termo IST é mais apropriado e será utilizado neste livro. Mais de 30 bactérias, vírus e infecções parasitárias têm sido identificados como transmitidos sexualmente. Nos Estados Unidos, estima-se que mais de 15 milhões de novos casos de ISTs ocorram anualmente. Muitas dessas infecções podem ser tratadas com sucesso com antibióticos e podem ser basicamente prevenidas pelo uso de preservativos. Entretanto, mais de 60 milhões de norte-americanos têm ISTs, a maioria viral, para as quais não há cura efetiva.

Gonorreia

Uma das doenças notificáveis mais comuns nos Estados Unidos é a **gonorreia**, uma IST causada pelo diplococo gram-negativo *Neisseria gonorrhoeae*. Uma doença antiga, a gonorreia foi descrita e recebeu seu nome atual do médico grego Galeno, em 150 d.C. (*gon* = sêmen + *rhea* = fluxo; um fluxo de sêmen – aparentemente, ele confundiu pus com sêmen). A incidência de gonorreia diminui nos

DOENÇAS EM FOCO 26.1

Doenças bacterianas do sistema urinário

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os testes laboratoriais. Por exemplo, uma mulher de 20 anos sentiu uma sensação de ardor quando urinava, além de urgência para urinar, mesmo que pouca urina fosse excretada. Bacilos gram-negativos fermentadores de lactose formam cultivados de sua urina (veja a foto). Utilize a tabela para identificar a infecção que poderia ser a causa desses sintomas.

Doença	Patógeno	Sintomas	Diagnóstico	Tratamento
Cistite (infecção da bexiga)	*Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*	Dificuldade ou dor ao urinar	>100 CFUs/mL de patógenos potenciais e teste LE +	Trimetoprim-sulfametoxazol
Pielonefrite (infecção renal)	Principalmente *E. coli*	Febre, dor nas costas ou nos flancos	> 10^4 CFUs/mL e teste LE +	Cefalosporina
Leptospirose (infecção renal)	*Leptospira interrogans*	Dor de cabeça, dores musculares, febre, insuficiência renal como possível complicação	Teste sorológico	Doxiciclina

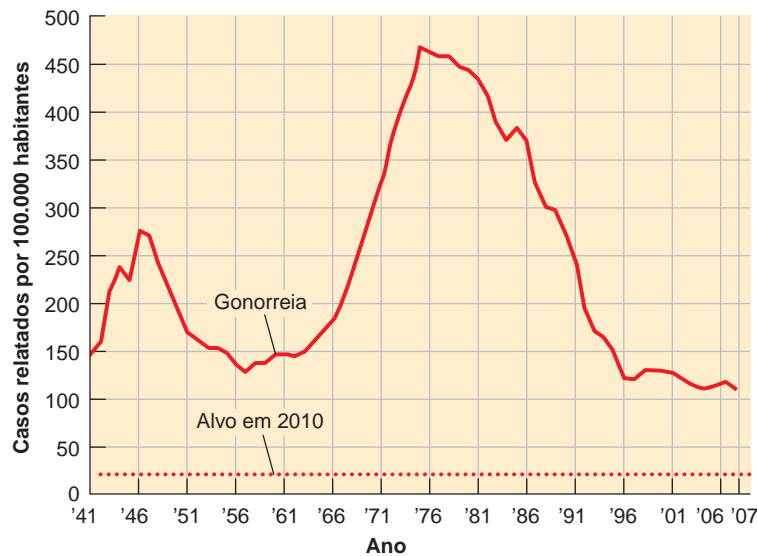
últimos anos, porém, mais de 300 mil casos ainda são relatados nos Estados Unidos a cada ano (**Figura 26.5a**). O número verdadeiro de casos provavelmente é muito maior, possivelmente 2 a 3 vezes maior que o relatado (**Figura 26.5b**). Mais que 60% dos pacientes com gonorreia têm entre 15 e 24 anos.

Para infectar, o gonococo precisa se ligar por meio das fímbrias às células mucosas da parede epitelial. O patógeno invade os espaços que separam as células epiteliais colunares, as quais são encontradas na área orofaríngea, nos olhos, no reto, na uretra, na abertura da cérvice e na área externa genital das mulheres pré-puberais. A invasão desencadeia uma inflamação e, quando os leucócitos se movem para a área inflamada, o pus característico se forma. Em homens, uma única exposição não protegida resulta em infecção com gonorreia 20 a 35% das vezes. As mulheres tornam-se infectadas em 60 a 90% das vezes com uma única exposição.

Os homens percebem a infecção gonorreica pela dor ao urinar e descarga de material contendo pus proveniente da uretra (**Figura 26.6**). Cerca de 80% dos homens infectados mostram estes sintomas óbvios após um período de incubação de apenas alguns dias; a maioria mostra sintomas em menos de uma semana. Nos dias anteriores à antibioticoterapia, os sintomas persistiam por semanas. Uma complicação comum é a uretrite, embora ela ocorra mais como resultado da coinfecção com *Chlamydia*, que será discutida em breve. Uma complicação rara é a *epididimite*, uma infecção do epidídimo. Normalmente de ocorrência unilateral, esta é uma condição dolorosa resultante da infecção ascendente ao longo da uretra e do canal deferente (veja a Figura 26.3).

Em mulheres, a doença é mais insidiosa. Somente a cérvice, que contém células epiteliais colunares, é infectada. As paredes da vagina são compostas de células epiteliais escamosas estratificadas, que não são colonizadas. Poucas mulheres percebem a infecção. Posteriormente, no curso da doença, pode ocorrer dor abdominal de complicações como a doença inflamatória pélvica (discutida na página 751).

Em homens e mulheres, a gonorreia não tratada pode se disseminar e se tornar uma doença sistêmica grave. Complicações da gonorreia podem envolver as articulações, o coração (*endocardite gonorreica*), as meninges (*meningite gonorreica*), os olhos, a faringe e outras partes do corpo. A *artrite gonorreica*, que é causada pelo crescimento do gonococo nos fluidos das articulações, ocorre em aproximadamente 1% dos casos de gonorreia. As articulações comumente afetas são as do pulso, do joelho e do tornozelo.

Se a mãe estiver infectada com gonorreia, os olhos do lactente podem se tornar infectados quando ele passar pelo canal do parto. Essa condição, a **oftalmia neonatal**, pode resultar em cegueira. Devido à gravidade dessa condição e à dificuldade de ter certeza que a mãe está livre de gonorreia, antibióticos são colocados nos olhos de todos os recém-nascidos. Se for conhecido que a mãe está infectada, uma injeção intramuscular de antibiótico também é administrada ao bebê. Algum tipo de profilaxia é requerido por lei em muitos estados norte-americanos. Infecções gonorreicas também podem ser transferidas pelo contato das mãos, de locais infectados para os olhos de adultos.

Nota: O alvo da política de saúde para a gonorreia em 2010 é 19 casos por 100.000 habitantes.

(a) Incidência de gonorreia nos Estados Unidos, de 1941 a 2007.

Nota: A taxa total de ocorrência de gonorreia nos Estados Unidos e em regiões associadas (Guam, Porto Rico e Ilhas Virgens) é de 119,4 casos por 100.000 habitantes.

(b) Distribuição geográfica de casos em 2006.

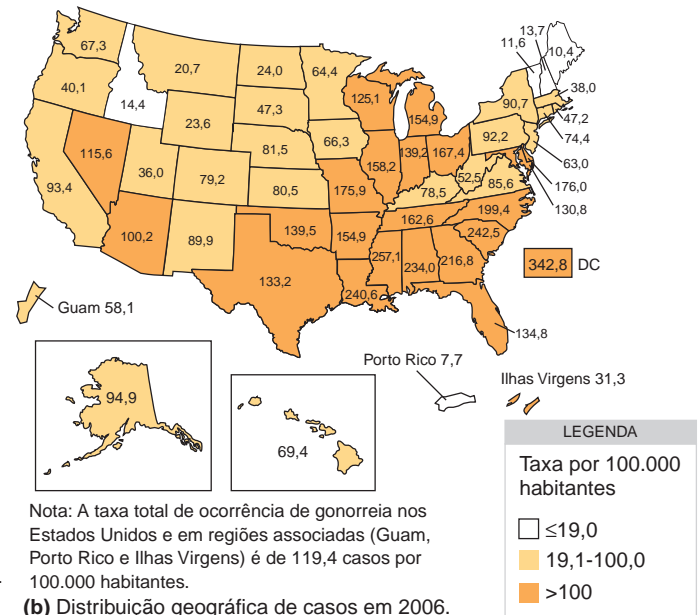



Figura 26.5 **Incidência e distribuição da gonorreia nos Estados Unidos.**

P **Como os gonococos se ligam às células mucosas epiteliais?**

As infecções gonorreicas podem ser adquiridas em qualquer momento do contato sexual; a gonorreia anal e a faríngea não são raras. Os sintomas da **gonorreia faríngea** frequentemente lembram aqueles das dores de garganta sépticas. A **gonorreia anal** pode ser dolorosa e acompanhada de descargas de pus. Na maioria dos casos, entretanto, os sintomas são limitados à coceira.

O aumento da atividade sexual com múltiplos parceiros e o fato de que a doença na mulher pode não ser reconhecida contribuíram consideravelmente para esse aumento da incidência de gonorreia e outras ISTs durante as décadas de 1960 e 1970. O uso de contraceptivos orais também contribuiu para esse aumento. Os contraceptivos orais frequentemente substituem o preservativo e os espermicidas, que ajudam a prevenir a transmissão da doença.

Não há imunidade adaptativa efetiva contra a gonorreia. A explicação convencional é que o gonococo exibe uma extraordinária variabilidade antigênica – o que é verdade. Atualmente, entretanto, uma teoria alternativa forneceu um mecanismo adicional. O gonococo é capaz de produzir muitas proteínas de opacidade (Opa) diferentes (veja o Capítulo 15, página 432), as quais são requeridas para a adesão das bactérias às células que recobrem os sistemas urinário e reprodutivo. Essas proteínas Opa ligam-se a uma família de receptores nas células hospedeiras; linfócitos T $CD4^+$ (um grupo que inclui células T auxiliares e células de memória) expressam somente uma destas famílias de receptores. Quando o receptor nos linfócitos se liga a uma determinada proteína Opa no gonococo, esta previne a ativação dos linfócitos e bloqueia sua proliferação. Este bloqueio desenvolve uma memória imunológica contra *N. gonorrhoeae* (experimentos mostram que linfócitos T $CD4^+$ que não apresentam este receptor Opa específico são estimulados a uma forte resposta imunológica). Este mecanismo que inibe a resposta imune adaptativa também pode explicar por que a infecção gonorreica gera um risco aumentado de adquirir outras ISTs, incluindo o HIV.

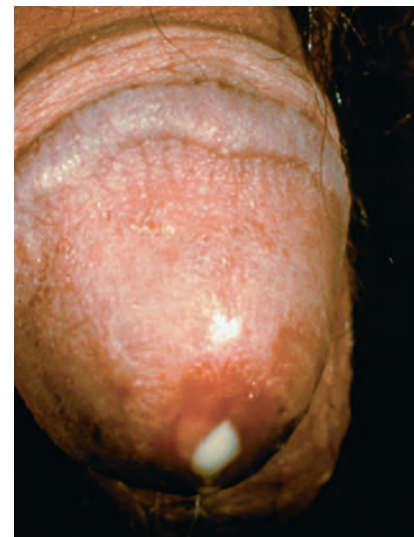



Figura 26.6 **Descarga uretral contendo pus de um homem com um caso agudo de gonorreia.**

P **O que causa a formação de pus na gonorreia?**

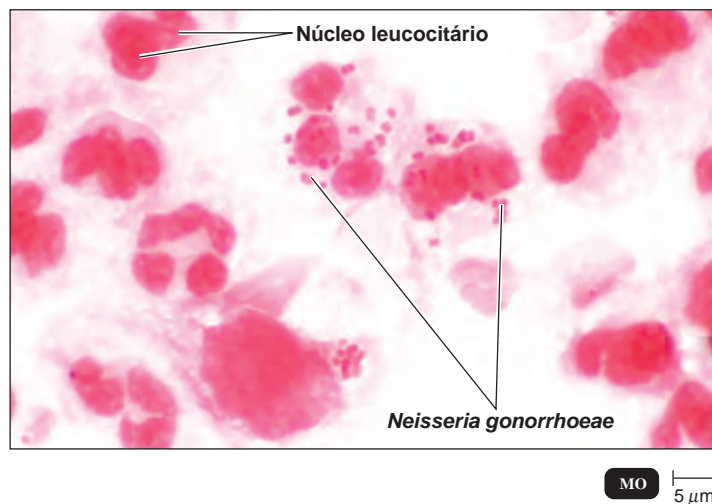



Figura 26.7 Um esfregaço de pus de um paciente com gonorreia. As bactérias *Neisseria gonorrhoeae* estão contidas dentro de leucócitos fagocíticos. Estas bactérias gram-negativas são visíveis aqui como pares de cocos. As grandes massas coradas são os núcleos dos leucócitos.

P **Como a gonorreia é diagnosticada?**

Diagnóstico da gonorreia

A gonorreia nos homens é diagnosticada pelo achado de gonococos em esfregaço de pus da uretra. O diplococo gram-negativo típico dentro dos leucócitos fagocíticos é rapidamente identificado (**Figura 26.7**). Não se sabe se essas bactérias intracelulares estão no processo de serem mortas ou se sobrevivem indefinidamente. É provável que ao menos uma fração da população bacteriana permaneça viável. A coloração de Gram dos exsudatos não é um método seguro para mulheres. Normalmente uma cultura é coletada da cérvice e cultivada em meios especiais. O cultivo da bactéria nutricionalmente exigente requer uma atmosfera enriquecida com dióxido de carbono. O gonococo é muito sensível às influências ambientais adversas (dessecação e temperatura) e sobrevive com dificuldade fora do corpo. Este micro-organismo requer meio de transporte especial para manter sua viabilidade por intervalos curtos antes de ser cultivado. O cultivo tem a vantagem de permitir a determinação da sensibilidade aos antibióticos.

O diagnóstico da gonorreia tem sido auxiliado pelo desenvolvimento de um teste de ELISA que detecta *N. gonorrhoeae* no pus uretral ou em esfregaços cervicais, em cerca de três horas, com alta acurácia. Outros testes rápidos agora disponíveis utilizam anticorpos monoclonais contra antígenos da superfície do gonococo. Testes de amplificação de ácido nucleico são muito precisos em identificar isolados clínicos de casos suspeitos.

Tratamento da gonorreia

As diretrizes para o tratamento da gonorreia requerem constante revisão devido ao surgimento de resistência (veja o quadro Foco Clínico na próxima página). Para a gonorreia que afeta os tecidos cervicais, uretrais ou retais, a recomendação atual é inicialmente utilizar as cefalosporinas, como a ceftriaxona ou o cefixime. Ceftriaxona também é recomendada para casos de infecção faríngea. Fluoroquinolonas não são recomendadas devido ao desenvolvimento rápido de resistência a elas. A menos que haja coinfecção com *Chlamydia trachomatis* (veja a discussão de uretrite não gonocócica a seguir), pode ser indicado que o paciente também seja tratado para este organismo. É também uma prática-padrão tratar parceiros sexuais de pacientes, para diminuir o risco de reinfecção e a incidência de ISTs em geral.

Uretrite não gonocócica

A **uretrite não gonocócica (UNG)**, também conhecida como **uretrite não específica (UNE)**, refere-se a quaisquer inflamações da uretra não causadas por *Neisseria gonorrhoeae*. Os sintomas incluem dor ao urinar e uma descarga aquosa.

Chlamydia trachomatis

O patógeno mais comum associado à UNG é a *Chlamydia trachomatis*. Muitas pessoas que apresentam gonorreia estão coinfectadas com *C. trachomatis*, que infecta as mesmas células epiteliais colunares que o gonococo. *C. trachomatis* também é responsável pela IST linfogranuloma venéreo (discutida na página 755) e pelo tracoma (veja a página 605). De especial importância é o fato de que cinco vezes mais casos são relatados em mulheres que em homens. Em mulheres, ela é responsável por muitos casos de doença inflamatória pélvica (discutida na página 751), além de infecções oculares e pneumonias em lactentes nascidos de mães infectadas. Infecções clamidiais genitais também estão associadas com alto risco de câncer cervical. Não se sabe se a infecção clamidial é um fator independente no risco ou se está associada a coinfecções com o papilomavírus humano (página 758).

Uma vez que os sintomas frequentemente são leves em homens, e as mulheres normalmente são assintomáticas, muitos casos de UNG permanecem não tratados. Embora as complicações não sejam comuns, podem ser bastante graves. Os homens podem desenvolver inflamação do epidídimo. Em mulheres, a inflamação das tubas uterinas pode causar cicatrizes e esterilidade por fibrose. Até 60% desses casos podem ser por infecção clamidial, em vez de gonocócica. Estima-se que cerca de 50% dos homens e 70% das mulheres não estão conscientes de suas infecções clamidiais.

Para o diagnóstico, a cultura é o método mais confiável, mas requer métodos de cultivo especializados, leva de 24 a 72 horas e nem sempre está disponível de maneira conveniente. Atualmente, existem diversos testes novos não baseados em cultura. Muitos deles amplificam e detectam as sequências de DNA e RNA do micro-organismo. Esses testes de amplificação podem ser feitos rapidamente e são muito sensíveis, em uma taxa de 80 a 91%; sua especificidade é de quase 100%. Entretanto, eles são relativamente caros e requerem um laboratório com equipamentos especializados. Amostras de urina podem ser utilizadas, mas a sensibilidade é menor que com esfregaços. O desenvolvimento mais recente em testes de amplificação é o uso de espécimes de esfregaços (uretrais ou vaginais) coletados pelos próprios pacientes, o que eles tendem a preferir.

Tendo em vista as sérias complicações frequentemente associadas às infecções por *C. trachomatis*, é recomendado que o

FOCO CLÍNICO

Sobrevivência do mais forte

Neste quadro você encontrará uma série de questões que os profissionais da saúde fazem a si mesmos quando tentam solucionar um problema clínico. Tente responder cada questão de acordo com o que você leu sobre o problema.

1. Em 24 de maio, um homem de 35 anos procurou atendimento em uma clínica de DST em Denver com um histórico de dor ao urinar e descarga uretral com cerca de um mês de duração.

   Que outras informações você deve ter sobre o histórico do paciente?

2. Em 11 de março ele retornou de uma "viagem de encontro" na Tailândia, durante a qual teve contato sexual com 7 ou 8 garotas de programa; ele negou ter tido qualquer outro contato desde que retornou aos Estados Unidos.

   Que tipo de amostra deveria ser coletada e como seria testada?

3. *Neisseria gonorrhoeae* foi identificada por reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) da descarga uretral. Ele foi tratado com uma dose única de ciprofloxacina 500 mg por via oral.

   Qual a vantagem do uso de PCR ou EIA em relação às culturas para o diagnóstico?

4. PCR e EIA fornecem resultados dentro de poucas horas, eliminando a necessidade do paciente retornar para o tratamento. Neste caso, o paciente retornou à clínica em 7 de junho com os mesmos sintomas. *Neisseria gonorrhoeae* foi novamente detectada na descarga uretral. Ele negou ter tido qualquer contato sexual desde sua última visita. O médico de plantão pediu um teste de sensibilidade antimicrobiana para testar os isolados de *N. gonorrhoeae.*

   Por que o médico se interessou pelo teste de suscetibilidade antimicrobiana nos espécimes deste paciente?

5. Uma das razões para a falha do tratamento com ciprofloxacina pode ser a infecção com uma *Neisseria gonorrhoeae* resistente à fluoroquinolona. O teste de suscetibilidade pode ser útil para explorar esta possibilidade.

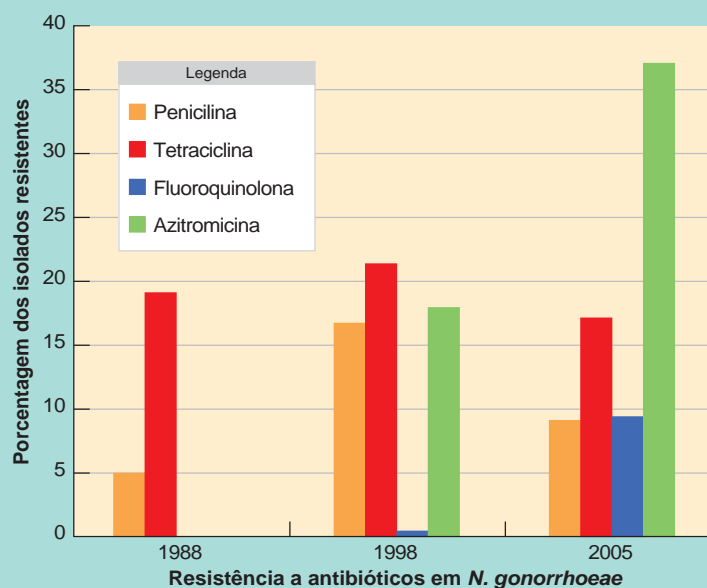
   O tratamento e o controle da gonorreia são complicados pela capacidade do micro-organismo de desenvolver resistência a agentes antimicrobianos. Tendências de resistência a antibióticos são mostradas na figura.

   Como a resistência aos antibióticos surge?

6. Em um ambiente repleto de antibióticos, as bactérias que apresentarem mutações para resistência a antibióticos terão uma vantagem seletiva e serão as "mais fortes" a sobreviver.

   Como a suscetibilidade aos antibióticos é determinada?

7. *N. gonorrhoeae* deve ser cultivada para determinar a suscetibilidade antimicrobiana em teste de disco-difusão ou teste de diluição em caldo. O aumento da utilização de métodos de diagnóstico não baseados em cultura, como PCR e EIA, é o principal desafio para monitorar a resistência antimicrobiana de *N. gonorrhoeae.*

Fonte: Dados do CDC. *Vigilância de Doenças Sexualmente Transmissíveis 1998 a 2005*.

médico faça a triagem de rotina para a infecção em mulheres sexualmente ativas com 25 anos ou menos. A triagem também é recomendada para outros grupos de alto risco, como pessoas solteiras, com outro risco para ISTs e com múltiplos parceiros sexuais.

Outras bactérias além da *C. trachomatis* também podem estar implicadas na UNG. Outra causa de uretrite e infertilidade é a *Ureaplasma urealyticum*. Esse patógeno é um membro do grupo dos micoplasmas (bactérias sem parede celular). Outro micoplasma, o *Mycoplasma hominis*, habitante comum da vagina, pode causar infecções oportunistas das tubas uterinas.

Tanto a clamídia quanto o micoplasma são sensíveis aos antibióticos tipo tetraciclina, como a doxiciclina, ou do tipo macrolídeo, como a azitromicina.

Doença inflamatória pélvica (DIP)

Doença inflamatória pélvica (DIP) é um termo coletivo para qualquer infecção bacteriana extensa dos órgãos pélvicos femininos, particularmente o útero, a cérvice, as tubas uterinas ou os ovários. Durante seus anos férteis, uma em cada dez mulheres sofre de DIP e, dessas, uma em cada quatro tem complicações graves como infertilidade ou dor crônica.

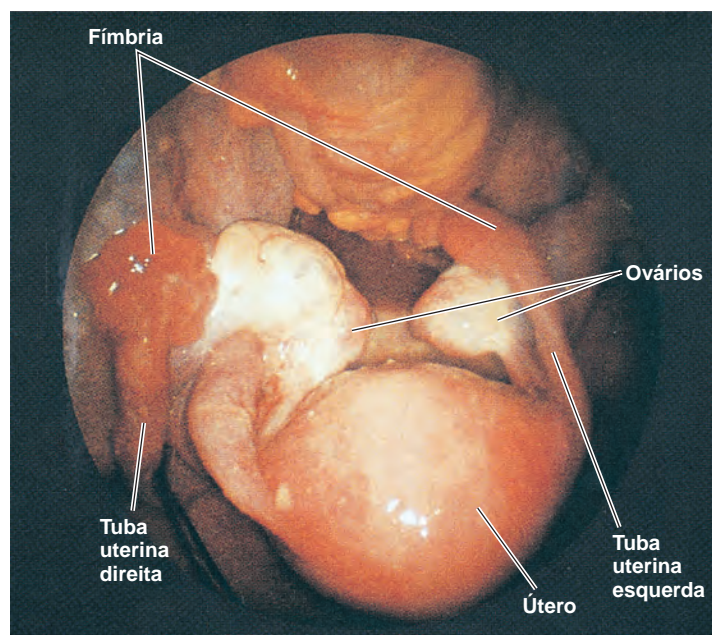



Figura 26.8. Salpingite. Esta fotografia, feita com um laparoscópio (um endoscópio especializado), mostra a tuba uterina direita com inflamação aguda e fímbria e ovário inflamados e edemaciados. A tuba esquerda está apenas levemente inflamada (veja a Figura 26.2). O uso de um laparoscópio é o método mais confiável para o diagnóstico de DIP.

P O que é DIP?

Figura 26.9 *Treponema pallidum*, o agente causador da sífilis. Os micróbios são melhor visualizados nesta micrografia de campo claro pelo uso de uma coloração de prata especial.

P Um método para o diagnóstico da sífilis é a microscopia de campo escuro. Por que não utilizar o microscópio de campo claro?

A DIP é considerada uma *infecção polimicrobiana*, o que significa que diversos patógenos diferentes podem ser a causa, incluindo coinfecções. Os dois micróbios mais comuns são a *N. gonorrhoeae* e a *C. trachomatis.* O começo da DIP clamidial é relativamente mais insidioso, com poucos sintomas inflamatórios iniciais, em comparação com a *N. gonorrhoeae*. Entretanto, o dano à tuba uterina pode ser maior com a infecção clamidial, especialmente no caso de infecções repetidas.

A bactéria pode se ligar às células espermáticas e ser transportada por elas da região cervical à tuba uterina. Mulheres que utilizam barreiras contraceptivas, especialmente com espermicidas, têm uma taxa significativamente inferior de DIP.

A infecção da tuba uterina, ou **salpingite**, é a forma mais séria de DIP (Figura 26.8). A salpingite pode resultar em cicatrizações que bloqueiam a passagem dos óvulos do ovário ao útero, possivelmente causando esterilidade. Um episódio de salpingite causa esterilidade em 10 a 15% das mulheres; 50 a 75% tornam-se inférteis após três ou mais dessas infecções.

Uma tuba uterina bloqueada pode fazer com que um ovo fertilizado seja implantado na tuba uterina, em vez do útero. Esse fenômeno é denominado *gravidez ectópica* (ou *tubária*), sendo uma condição potencialmente letal devido à possibilidade de ruptura da tuba, com hemorragia resultante. Os relatos de casos de gravidez ectópica têm aumentado continuamente, correspondendo ao aumento da ocorrência de DIP.

Um diagnóstico de DIP depende muito dos sinais e dos sintomas, em combinação com as indicações laboratoriais de gonorreia ou infecção clamidial da cérvice. O tratamento recomendado para DIP é a administração simultânea de doxiciclina e cefoxitina (uma celafosporina). Essa combinação é ativa contra ambos, gonococos e clamídia. Essas recomendações são constantemente revistas.

Sífilis

O agente causador da **sífilis** é uma espiroqueta gram-negativa, o *Treponema pallidum* (Figura 26.9). Delgado e altamente retorcido, o *T. pallidum* dificilmente cora-se com os corantes bacterianos usuais (o nome da bactéria é derivado das palavras gregas para "fio retorcido" e "pálido"). *T. pallidum* não possui as enzimas necessárias para produzir muitas moléculas complexas, por isso utiliza muitos componentes do hospedeiro necessários à vida. Os organismos perdem a infectividade fora do hospedeiro mamífero em pouco tempo. Para propostas de pesquisa, eles se propagam normalmente em coelhos, mas seu crescimento é lento, com um tempo de geração de 30 horas ou mais. Eles podem ser expandidos em culturas celulares, em baixas concentrações de oxigênio, mas somente por poucas gerações.

P&R O *T. pallidum* obviamente não possui fatores de virulência, como toxinas, mas produz muitas lipoproteínas que induzem uma resposta imune inflamatória. Esta aparentemente é a causa da destruição tecidual da doença. Quase imediatamente após a infecção, o organismo entra na corrente sanguínea e invade profundamente os tecidos, cruzando facilmente as junções entre as células. Ele possui uma mobilidade do tipo saca-rolhas, que permite que "nade" rapidamente nos fluidos gelatinosos teciduais.

Os primeiros relatos de sífilis datam do final do século XV, na Europa, quando o retorno de Colombo do Novo Mundo deu origem à hipótese que a sífilis foi introduzida na Europa por seus homens. Uma descrição inglesa do "morbus gallicus" (doença francesa) parece descrever a sífilis claramente em 1547 e se refere a sua transmissão nesses termos: "... ela é adquirida quando uma pessoa pustulenta se relaciona em pecado com outra".

Amostras distintas de *T. pallidum* (subespécies *T.p. pertenue*) são responsáveis por certas doenças endêmicas tropicais, como a **bouba**. Essas amostras causam doença de pele, mas não são trans-

Nota: O alvo da política de saúde para a sífilis em 2010 é 0,2 caso por 100.000 habitantes.

(a) Incidência de sífilis nos Estados Unidos, de 1941 a 2007.

Nota: A taxa total de ocorrência de sífilis nos Estados Unidos e em áreas periféricas (Guam, Porto Rico e Ilhas Virgens) é de 3,3 por 100.000 habitantes.

(b) Distribuição geográfica de casos em 2006.

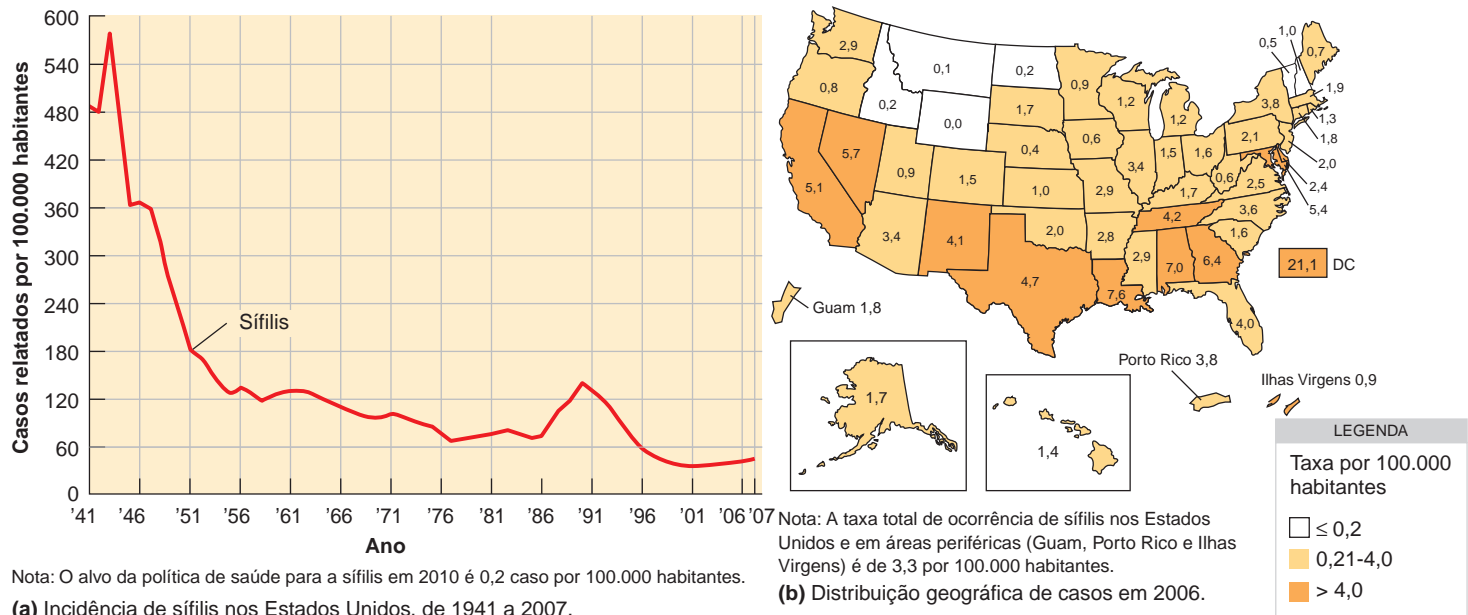



Figura 26.10 Incidência e distribuição da sífilis primária e secundária nos Estados Unidos.

Fonte: CDC, *STD vigilância*, 13 de novembro de 2007.

 Como a sífilis é diagnosticada?

mitidas sexualmente. Entretanto, há evidência de uma provável associação histórica com a sífilis. Pesquisas recentes baseadas na análise genética do *Treponema* spp. indicam que o patógeno causador da bouba encontrada nas regiões da América do Sul, próximas ao Caribe sofreu uma mutação em uma DST em contato com os exploradores europeus.

O número de novos casos de sífilis nos Estados Unidos tem permanecido razoavelmente estável (**Figura 26.10**), se comparado com a gonorreia (veja a Figura 26.5). A estabilidade relativa na incidência de sífilis é notável, pois a epidemiologia das duas doenças é muito similar, e as infecções concominantes são comuns. Um fator é que a sífilis resulta em uma imunidade significativa, embora imperfeita, em comparação a nenhuma imunidade conferida pela gonorreia.

Muitos estados suspenderam as exigências de testes pré-nupciais de sífilis, porque somente poucos casos foram detectados. Atualmente, a população sob maior risco é a dos residentes urbanos de baixo nível socioeconômico de ambos os sexos, especialmente usuários de drogas e pessoas que se prostituem. Esta doença é relativamente rara na população de nível mais elevado.

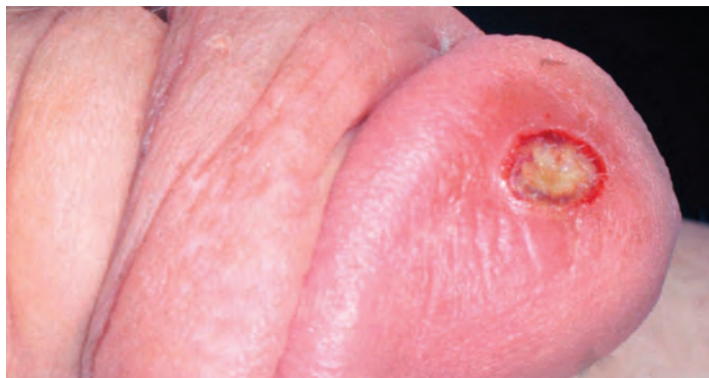
A sífilis é transmitida por contato sexual de quaisquer tipos, por infecção sifilítica da área genital e de outras partes do corpo. O período médio de incubação é de três semanas, mas pode variar de duas semanas a muitos meses. A doença progride, ocorrendo muitos estágios reconhecidos.

Estágio primário da sífilis

No *estágio primário* da doença, o sinal inicial é um **cancro** pequeno e de base endurecida, que aparece no sítio da infecção de 10 a 90 dias pós-exposição – em média, três semanas (**Figura 26.11a**). O cancro é indolor, e um exsudato seroso se forma no centro. Esse fluido é altamente infeccioso, e o exame em microscopia de campo escuro mostra muitas espiroquetas. Em algumas semanas a lesão desaparece. Nenhum desses sintomas causa qualquer desconforto. De fato, muitas mulheres têm total desconhecimento do cancro, que com frequência se localiza na cérvice. Nos homens, o cancro muitas vezes se forma na uretra e não é visível. Durante esse estágio, as bactérias entram na corrente sanguínea e no sistema linfático, que as distribuem amplamente pelo corpo.

Estágio secundário da sífilis

Muitas semanas após o estágio primário (o tempo exato varia e os estágios podem se sobrepor), a doença entra no *estágio secundário*, caracterizado principalmente por uma erupção cutânea de aparência variável. A erupção é amplamente distribuída pela pele e pelas membranas mucosas, sendo especialmente visível nas regiões palmar e plantar (**Figura 26.11b**). O dano ocorrido aos tecidos neste estágio e no estágio terciário tardio deve-se principalmente à resposta inflamatória aos complexos imunes circulantes que se alojam em várias partes do corpo. Outros sintomas frequentemente observados são perda de tufos de cabelo, mal-estar e febre leve. Algumas pessoas apresentam sintomas neurológicos.

Neste estágio, as lesões da erupção contêm muitas espiroquetas e são muito infecciosas. A transmissão por contato sexual pode ocorrer durante os estágios primário e secundário. Dentistas e outros profissionais da saúde podem se infectar ao entrarem em contato com os fluidos dessas lesões pela penetração das espiroquetas através de lacerações diminutas na pele.

(a) Cancro de estágio primário na área genital masculina.

(b) Lesões de erupção cutânea de sífilis secundária na palma da mão e na parte inferior do antebraço. Qualquer superfície corporal pode ser atingida com essas lesões.

(c) Lesões gomosas de estágio terciário no dorso do braço; lesões gomosas como estas raramente são vistas hoje em dia, na era dos antibióticos.

Figura 26.11 Lesões características associadas aos vários estágios da sífilis.

P Como são diferenciados os estágios primário, secundário e terciário da sífilis?

Essa transmissão não sexual é possível, porém os micróbios não sobrevivem por muito tempo nas superfícies ambientais, não sendo comum serem transmitidos, por exemplo, em assentos sanitários. A sífilis secundária é uma doença sutil; pelo menos metade dos pacientes diagnosticados nessa fase não se recorda de nenhum tipo de lesão. Os sintomas desaparecem, normalmente, dentro de três meses.

Período latente

Os sintomas da sífilis secundária normalmente regridem após algumas semanas, e a doença entra no *período latente*. Durante esse período, não há sintomas. Após 2 a 4 anos de latência, a doença normalmente é não infecciosa, exceto pela transmissão materno-fetal. A maioria dos casos não progride além do estágio latente, mesmo sem tratamento.

Estágio terciário da sífilis

Devido ao fato de os estágios primário e secundário da sífilis não serem debilitantes, as pessoas podem entrar no período latente sem que tenham recebido atendimento médico. Em até 25% dos casos não tratados, a doença reaparece em seu estágio terciário. Esse estágio ocorre somente após um intervalo de muitos anos depois da ocorrência do período latente.

T. pallidum possui uma camada externa de lipídeos que estimula uma resposta imune pouco efetiva, especialmente por reações de complemento destruidoras de células. Ele foi descrito como um "patógeno Teflon". No entanto, a maioria dos sintomas da sífilis terciária provavelmente se deve às reações imunes do corpo (mediadas por células) à sobrevivência das espiroquetas.

O estágio terciário, ou tardio, da sífilis em geral pode ser classificado pelos tecidos afetados e pelo tipo de lesão. A *sífilis gomosa* é caracterizada por **lesões gomosas**, uma forma de inflamação progressiva que tem a aparência de uma massa gomosa de tecido (**Figura 26.11c**) em vários órgãos (mais comumente na pele, nas membranas mucosas e nos ossos) após cerca de 15 anos. Nesses locais, elas causam destruição dos tecidos, mas normalmente não causam incapacitação ou morte.

A *sífilis cardiovascular* resulta em enfraquecimento da aorta. Nos dias anteriores à antibioticoterapia, esse era um dos sintomas mais comuns da sífilis, mas hoje é raro.

A neurossífilis ocorre em até 10% dos pacientes se a doença não for tratada. Como partes do sistema nervoso central são afetadas, o resultado pode variar amplamente em sinais e sintomas. Os pacientes podem apresentar mudança de personalidade e outros sinais de demência (*paresia*), convulsões, perda de coordenação dos movimentos voluntários (*tabes dorsalis*), paralisia parcial, perda da habilidade do uso ou da compreensão da linguagem falada, perda de visão ou audição, ou perda do controle da bexiga e dos intestinos. Poucos ou nenhum patógeno é encontrado nas lesões do estágio terciário, e eles não são considera-

dos muito infecciosos. Hoje em dia, raramente os casos de sífilis progridem até esse estágio.

Sífilis congênita

Uma das formas mais perturbadoras e perigosas da sífilis, chamada de **sífilis congênita,** é transmitida através da placenta para o feto. O prejuízo do desenvolvimento mental e outros sintomas neurológicos estão entre as consequências mais graves. Esse tipo de infecção é mais comum quando a gestação ocorre durante o período latente da doença. A gestação durante os estágios primário e secundário mais comumente produz um natimorto. O tratamento da mãe com antibióticos durante os dois primeiros trimestres irá prevenir a transmissão congênita.

Diagnóstico da sífilis

O diagnóstico da sífilis é complexo porque cada estágio da doença tem exigências especiais. Os testes se dividem em três grupos gerais: inspeção microscópica visual, testes sorológicos treponêmicos e testes sorológicos não treponêmicos. Para a triagem preliminar, os laboratórios usam o teste sorológico não treponêmico ou o exame microscópico de exsudatos das lesões, quando estão presentes. Se o teste de triagem for positivo, os resultados são confirmados por testes sorológicos treponêmicos.

Os *testes microscópicos* são importantes para a triagem da sífilis primária porque os testes sorológicos para esse estágio não são confiáveis; os anticorpos levam de 1 a 4 semanas para se formarem. As espiroquetas podem ser detectadas nos exsudatos das lesões por exame microscópico em campo escuro (veja a Figura 3.4b, página 60). Esse tipo de microscópio é necessário porque a bactéria se cora pouco e tem apenas 0,2 mm de diâmetro, próximo do limite mínimo de resolução de um microscópio de campo claro. De forma semelhante, um teste de anticorpo fluorescente direto (DFA-TP) utilizando anticorpos monoclonais (veja a Figura 18.11a, página 515) irá tanto mostrar quanto identificar a espiroqueta. A Figura 26.9 mostra o *T. pallidum* sob iluminação de campo claro feita possivelmente com uma coloração especial com impregnação de prata.

No estágio secundário, quando as espiroquetas já invadiram a maioria dos órgãos do corpo, os testes sorológicos são reativos. Os *testes sorológicos* não treponêmicos são assim chamados porque não são específicos; eles não detectam as espiroquetas em si, mas detectam a produção de *anticorpos reagina*. Geralmente eles são utilizados para triagem. Os anticorpos reagina aparentemente são uma resposta ao material lipídico que se forma no organismo, como uma reação indireta em resposta à infecção pelas espiroquetas. Esses testes detectam aproximadamente 70 a 80% dos casos de sífilis primária, mas detectam 99% dos casos de sífilis secundária. Um exemplo de teste não treponêmico é a lâmina de aglutinação, o **teste VDRL** (de *Venereal Disease Research Laboratory*, ou Laboratório de Pesquisa de Doença Venérea). Também são utilizadas as modificações do **teste rápido de reagina plasmática** (**RPR**, de *rapid plasma reagin*), que é semelhante ao teste VDRL. O mais novo teste não treponêmico é um teste de ELISA que utiliza o antígeno VDRL.

Há também um *teste sorológico tipo treponêmico* que reage diretamente com a espiroqueta. Certos testes treponêmicos com base em ensaios imunoenzimáticos são realizados em muitos laboratórios e oferecem uma triagem de alto processamento. Há também o **teste diagnóstico rápido** (**RDT**, de *rapid diagnostic test*), que pode ser feito a partir de uma gota de sangue coletada do dedo do paciente em um consultório médico. Nenhum desses testes irá distinguir a *priori* uma infecção ativa, e testes confirmatórios são necessários, os quais normalmente devem ser feitos em um laboratório central de referência.

Somente testes do tipo treponêmico são utilizados como testes confirmatórios. Um exemplo é o **teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente** (**FTA-ABS**, de *fluorescent treponemal antibody absorption test*), um teste indireto de anticorpo fluorescente (veja a Figura 18.11b, página 515). Testes treponêmicos não são utilizados com frequência para triagem porque cerca de 1% dos resultados é de falso-positivos, mas um teste positivo com os testes treponêmico e não treponêmico é altamente específico.

Tratamento da sífilis

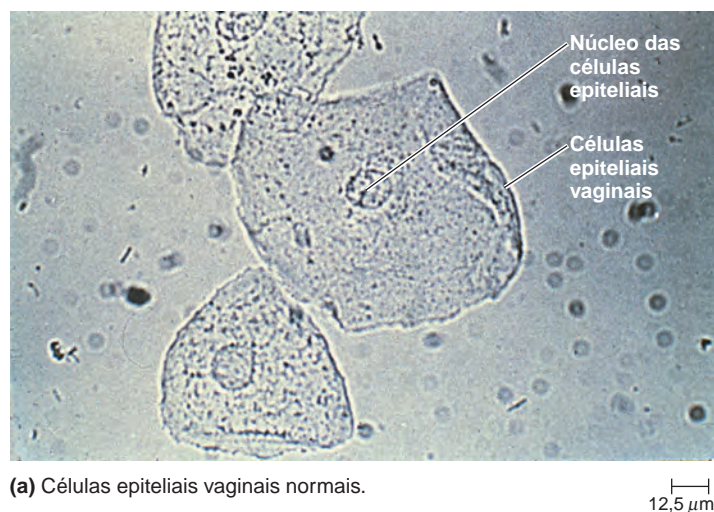
A penicilina benzatina, uma formulação de ação prolongada que permanece efetiva no corpo por cerca de duas semanas, é o antibiótico normalmente utilizado no tratamento da sífilis. A concentração alcançada no soro por essa formulação é baixa, mas a espiroqueta tem permanecido muito sensível a esse antibiótico.

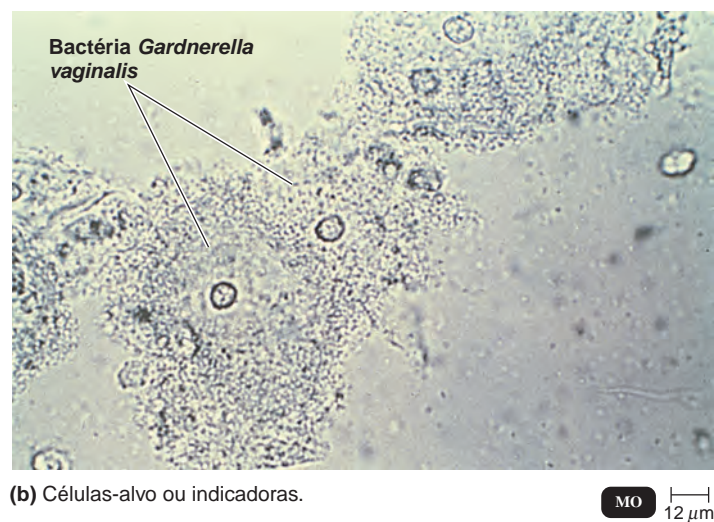
Para pessoas sensíveis à penicilina, muitos outros antibióticos, como a azitromicina, a doxiciclina e a tetraciclina, também têm provado ser efetivos. A antibioticoterapia para tratar a gonorreia e outras infecções não elimina também a sífilis, porque esta terapia normalmente é administrada por períodos muito curtos para afetar o crescimento lento da espiroqueta.

Linfogranuloma venéreo (LGV)

Muitas ISTs que são pouco comuns nos Estados Unidos são frequentes em áreas tropicais do mundo. Por exemplo, a *Chlamydia trachomatis*, que causa a infecção ocular denominada tracoma e é a principal causa de UNG, também é responsável pelo **linfogranuloma venéreo (LGV),** uma doença encontrada em regiões tropicais e subtropicais. Ela aparentemente é causada por sorovares de *C. trachomatis* que são invasivos e tendem a infectar os tecidos linfoides. Nos Estados Unidos, normalmente há 200 a 400 casos a cada ano, principalmente entre homossexuais masculinos, muitos também HIV-positivos.

Os micro-organismos invadem o sistema linfático, e a região dos linfonodos torna-se aumentada e dolorosa. A supuração (descarga de pus) também pode ocorrer. A inflamação dos linfonodos resulta em cicatrizes, que ocasionalmente obstruem os vasos linfáticos. Esse bloqueio algumas vezes leva a um aumento de volume da genitália externa nos homens. Em mulheres, o envolvimento dos linfonodos da região retal pode levar ao estreitamento do reto. Essas condições podem, ocasionalmente, requerer cirurgia.

Para o diagnóstico, o pus pode ser aspirado dos linfonodos infectados. Quando as células infectadas são propriamente coradas com uma preparação contendo iodo, o acúmulo de clamídias intracelulares pode ser visto como inclusões. Os micro-organismos isolados também podem crescer em culturas celulares ou ovos embrionados. A droga de escolha para o tratamento é a doxiciclina.

(a) Células epiteliais vaginais normais.

12,5 μm

(b) Células-alvo ou indicadoras.

12 μm

Figura 26.12 Células-alvo ou indicadoras. Bactéria *Gardnerella* cobrindo a superfície das células epiteliais vaginais.

P **Que sintomas levariam você a procurar por células-alvo?**

Cancroide (cancro mole)

A IST conhecida como **cancroide (cancro mole)** ocorre mais frequentemente em áreas tropicais, onde é vista com mais frequência que a sífilis. O número de casos relatados nos Estados Unidos tem diminuído de um pico de 5.000 casos em 1988. Quase todos ocorrem em Nova York, Texas, Califórnia, Flórida e Geórgia. Assim como a sífilis, sua incidência está fortemente associada ao uso de drogas. Uma vez que o cancroide raramente é visto pelos clínicos, é difícil de diagnosticar e, provavelmente, é pouco relatado. Ele é muito comum na África, na Ásia e na América Latina.

No cancroide, uma ulceração dolorosa e edemaciada que se forma sobre a genitália envolve uma infecção dos linfonodos adjacentes. Os linfonodos infectados na virilha algumas vezes ulceram e secretam pus na superfície da pele. Essas lesões são um fator importante na transmissão do HIV, especialmente na África. As lesões também podem ocorrer em outras áreas, como a língua e os lábios. O agente causador é o *Haemophilus ducreyi,* um pequeno bacilo gram-negativo que pode ser isolado a partir dos exsudatos das lesões. Os sintomas e o cultivo dessas bactérias são o principal meio de diagnóstico. Os antibióticos recomendados incluem eritromicina e ceftriaxona.

Vaginose bacteriana

A inflamação da vagina devido à infecção, ou **vaginite**, é mais comumente causada por um de muitos organismos, principalmente o fungo *Candida albicans*, o protozoário *Trichomonas vaginalis* ou a bactéria *Gardnerella vaginalis*, um pequeno bacilo pleomórfico e gram-variável (veja Doenças em Foco 26.2, página 759). A maioria dos casos é atribuída à presença de *G. vaginalis*, sendo denominada **vaginose bacteriana** (como não há sinal de inflamação, o termo *vaginose* é preferido em vez de *vaginite*).

A condição é um "mistério ecológico". Acredita-se que as vaginoses bacterianas sejam precipitadas por alguns eventos que reduzem o número de bactérias *Lactobacillus vaginais*, que normalmente produzem peróxido de hidrogênio. Esse desafio competitivo permite que bactérias, especialmente *G. vaginalis*, se proliferem, produzindo aminas que contribuem para aumentar o pH ainda mais. Essas várias bactérias, a maioria comumente encontrada na vagina de mulheres assintomáticas, são metabolicamente independentes. Essa situação em si não leva à aplicação dos postulados de Koch para determinar uma causa específica. Não há condição correspondente nos homens, mas a *G. vaginalis* com frequência está presente em suas uretras. Desse modo, a condição pode ser sexualmente transmitida, mas ocasionalmente ocorre em mulheres que não são sexualmente ativas.

A vaginose bacteriana é caracterizada por um pH vaginal acima de 4,5 e uma abundante descarga vaginal espumosa. Quando testadas com uma solução de hidróxido de potássio, essas secreções vaginais liberam um cheiro de peixe devido à presença de aminas produzidas pela *G. vaginalis.* O diagnóstico tem como base o pH vaginal, o odor de peixe (*teste de exalação*) e a observação microscópica de *células-alvo* (ou *indicadoras*) na descarga vaginal. Essas células-alvo são células epiteliais vaginais excretadas cobertas com um biofilme bacteriano, composto principalmente de *G. vaginalis* (**Figura 26.12**). A doença era considerada mais uma irritação que uma infecção séria, mas atualmente tem sido vista como um fator em muitos partos prematuros e nascimento de bebês com baixo peso.

O tratamento é feito principalmente com metronidazol, uma droga que erradica os anaeróbicos essenciais à continuação da doença, mas permite que os lactobacilos normais repovoem a vagina. Os tratamentos desenvolvidos para restaurar a população normal de lactobacilos, como a aplicação de géis de ácido acético e até mesmo iogurte, não demostraram ser conclusivamente eficazes.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Por que a condição de doença no trato reprodutivo feminino, principalmente caracterizando o crescimento de *Gardnerella vaginalis*, é denominada vaginose em vez de vaginite? **26-6**

Doenças virais do sistema reprodutivo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

26-7 Discutir a epidemiologia do herpes genital e das verrugas genitais.

As doenças virais do trato reprodutivo são de difícil tratamento e assim representam um problema de saúde cada vez maior.

Herpes genital

Uma IST muito divulgada é o **herpes genital**, normalmente causado pelo vírus *herpes simples tipo 2* (*HSV-2*). (O vírus herpes simples ocorre como tipo 1 ou tipo 2.) O vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1) é o principal responsável pelo herpes labial, ou febre bolhosa (veja a página 597), mas também pode causar herpes genital. Os nomes oficiais são herpesvírus humano 1 (HHV-1) e 2 (HHV-2).

Nos Estados Unidos, uma em cada quatro pessoas com mais de 30 anos está infectada com HSV-2, a maioria não tendo conhecimento de sua condição (**Figura 26.13**). Tem havido um aumento significativo na ocorrência de infecções genitais por HSV-1, normalmente adquiridas por contato oro-genital, e essa condição constitui agora cerca de metade dos casos de herpes genital nos Estados Unidos.

As lesões de herpes genital aparecem após um período de incubação de no máximo uma semana e causam uma sensação de queimação. A seguir, aparecem as vesículas (**Figura 26.14**). Tanto em homens quanto em mulheres, a micção pode ser dolorosa e caminhar é muito desconfortável; até mesmo as roupas irritam os pacientes. Normalmente, as vesículas cicatrizam em algumas semanas.

As vesículas contêm fluidos infecciosos, mas muitas vezes a doença é transmitida quando não há sintoma ou lesão aparente. O sêmen contém o vírus. Os preservativos podem não fornecer proteção, pois as vesículas nas mulheres normalmente estão na genitália externa (raramente na cérvice ou dentro da vagina), e as vesículas nos homens podem estar na base do pênis.

Uma das características mais perturbadoras do herpes genital é a possibilidade de recorrência. Há um elemento de verdade no adágio médico que diz que, ao contrário do amor, o herpes é para sempre. Como em outras infecções herpéticas, como o herpes labial ou o herpes zoster, o vírus entra em estado latente nas células nervosas. Algumas pessoas têm muitas recorrências por ano; para outras, a recorrência é um evento raro. Os homens parecem ter mais recorrências que as mulheres. A reativação parece ser desencadeada por vários fatores, incluindo menstruação, estresse emocional ou doença (especialmente se acompanhada de febre, um fator que também está envolvido no aparecimento do herpes labial) e talvez mesmo o ato de coçar/arranhar a área afetada. Cerca de 90% dos pacientes com HSV-2 e cerca de 50% daqueles com HSV-1 terão recorrência. A taxa de recorrência diminui com o tempo, independente do tratamento.

Figura 26.13 **Herpes genital: visitas iniciais a consultórios clínicos nos Estados Unidos, de 1996 a 2006.**

P **Qual a possível causa para as mudanças na incidência de uma doença, como mostrado neste gráfico?**

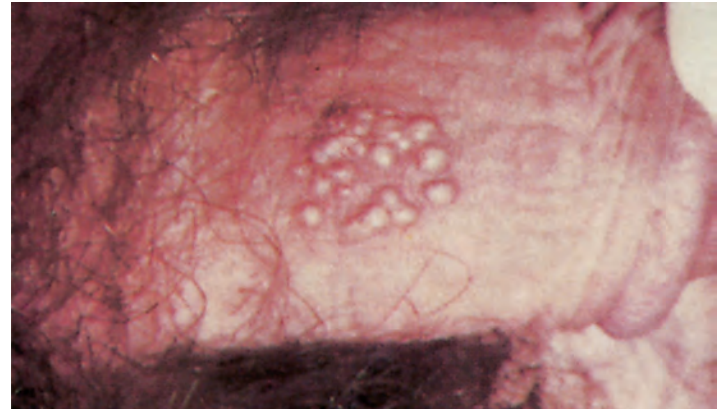



Figura 26.14 **Vesículas de herpes genital no pênis.**

P **Que micróbio causa o herpes genital?**

O diagnóstico de herpes genital pode ser feito pelo isolamento do vírus a partir das vesículas; entretanto, o teste de PCR dessas amostras tem provado ser mais sensível e é muito mais rápido. Se não há lesões para serem amostradas, uma testagem sorológica pode identificar infecções por HSV ou confirmar o diagnóstico clínico com base nos sintomas.

Não há cura para o herpes genital, embora as pesquisas sobre a prevenção e o tratamento sejam intensivas. As discussões sobre quimioterapia utilizam termos como *supressão* ou *administração*, em vez de *cura*. Atualmente as drogas antivirais aciclovir, fanciclovir e valaciclovir são recomendadas para o tratamento. Elas são razoavelmente efetivas em aliviar os sintomas de um primeiro episódio; há algum alívio da dor e uma cicatrização levemente mais rápida. Se forem tomadas por vários meses, essas drogas diminuem as chances de recorrência durante o tempo de uso. Estudos recentes indicam que o valaciclovir administrado diariamente pode interromper significativamente a transmissão sexual do herpes genital. Nenhuma vacina está disponível atualmente.

Herpes neonatal

O *herpes neonatal* é um problema sério para mulheres em idade fértil. Atualmente, cerca de 1.500 casos a cada ano são relatados nos Estados Unidos. O vírus pode cruzar a barreira placentária e afetar o feto. O resultado pode ser o aborto espontâneo ou sérios danos fetais, como retardo mental e déficit de audição e visão. Infecções herpéticas do recém-nascido parecem ter consequências mais sérias quando a mãe adquire a infecção inicial por herpes durante

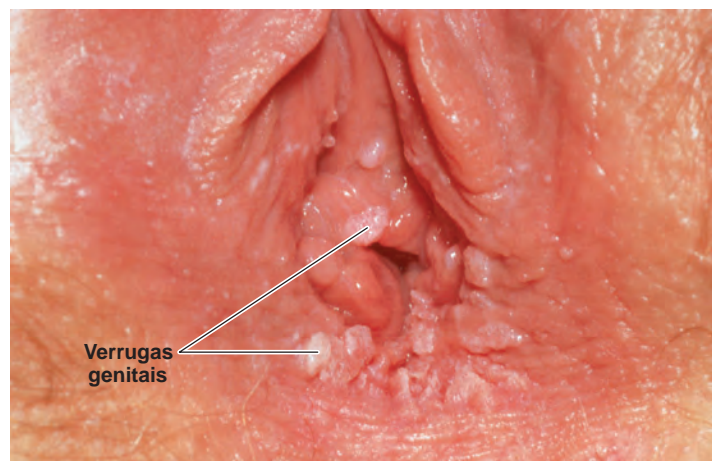



Figura 26.15 **Verrugas genitais na vulva.**

P **Qual a relação entre verrugas genitais e câncer cervical?**

a gestação. Assim, qualquer mulher gestante sem um histórico de herpes genital deveria evitar contato sexual com qualquer pessoa portadora do vírus. O dano ao feto ou ao neonato é menos provável, por um fator de 10, por exposição ao herpes recorrente ou assintomático. A razão é que os anticorpos maternos aparentemente oferecem alguma proteção.

Para fins práticos, o feto é considerado infectado se o vírus puder ser cultivado a partir do seu fluido amniótico. Esse procedimento está amplamente disponível e requer cerca de cinco dias. Mesmo que o feto esteja livre do vírus, ele ainda precisa ser protegido da infecção durante a passagem pelo canal do parto. Os sinais clínicos da infecção nem sempre podem ser vistos, e testes para detectar pessoas assintomáticas disseminando o vírus não são 100% confiáveis.

Se houver lesões virais óbvias no momento do parto, uma cesariana é aconselhável. A cirurgia deve ser feita antes que a membrana fetal se rompa e o vírus se dissemine para o útero.

Verrugas genitais

As verrugas são uma doença infecciosa; desde 1907 sabe-se que elas são causadas pelos papilomavírus. Provavelmente menos pessoas saibam que as verrugas podem ser transmitidas sexualmente e que este é um problema crescente. Estima-se que cerca de um milhão de novos casos de **verrugas genitais** ocorrem nos Estados Unidos a cada ano.

Há mais de 60 sorotipos de papilomavírus humanos (HPV, de *human papillomaviruses*), e certos sorotipos tendem a estar correlacionados com algumas formas de verrugas genitais (tecnicamente, *condiloma acuminado*). Morfologicamente, algumas verrugas são muito grandes e de aparência "esponjosa", com múltiplas projeções semelhantes a dedos, lembrando uma couve-flor; outras são relativamente lisas ou planas (**Figura 26.15**). O período de incubação normalmente é de poucas semanas a meses.

A infecção por HPV é comum. Testes recentes demonstraram que mais de um quarto de todas as mulheres dos Estados Unidos com 14 a 59 anos estavam infectadas, o que faz do HPV a infecção sexualmente transmissível mais comum. Verrugas genitais visíveis normalmente são causadas pelos sorotipos 6 e 11. Estes sorotipos raramente causam câncer, que é a maior preocupação com essas infecções. Os tipos mais comuns relacionados ao câncer são o 16 e o 18, porém eles têm uma prevalência relativamente baixa. Mesmo assim, o câncer cervical causado por HPV mata pelo menos 4.000 mulheres anualmente nos Estados Unidos.

Como regra geral, as verrugas podem ser tratadas, porém não curadas (veja a discussão na página 595). Entretanto, aproximadamente 90% dos casos desaparecem dentro de dois anos. Os métodos disponíveis utilizados para o tratamento de verrugas (com cirurgia ou crioterapia) não são efetivos contra verrugas genitais. Dois géis aplicáveis pelos pacientes, podofilox e imiquimode, frequentemente são utilizados nos tratamentos. O imiquimode (Aldara) estimula a produção de interferon pelo organismo (página 468), o que parece explicar sua atividade antiviral. Uma vacina efetiva contra os tipos 6, 11, 16 e 18 foi licenciada e é recomendada para garotas de 11 e 12 anos.

Aids

A **Aids,** ou infecção por HIV, é uma doença viral que frequentemente é transmitida pelo contato sexual. Entretanto, sua patogenicidade é baseada no dano ao sistema imune, de modo que foi discutida nas páginas 539-548. É importante lembrar que as lesões resultantes de muitas doenças de origem bacteriana e viral facilitam a transmissão do HIV.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ O herpes genital e as verrugas genitais são causados por vírus; qual dos vírus oferece maior risco à gestação? **26-7**

Doenças fúngicas do sistema reprodutivo

OBJETIVO DO APRENDIZADO

26-8 Discutir a epidemiologia da candidíase;

A doença fúngica descrita aqui é uma das mais conhecidas infecções por leveduras, para a qual tratamentos não prescritos são comercializados.

Candidíase

As infecções vaginais por fungos leveduriformes do gênero *Candida* são responsáveis por milhões de visitas a consultórios médicos a cada ano. Existe uma estimativa de que metade das mulheres universitárias terá tido pelo menos um episódio diagnosticado por um clínico ao chegar aos 25 anos. Terapias antifúngicas de venda livre para tratar essas infecções estão entre os produtos mais vendidos nos Estados Unidos. *Candida albicans* é a espécie mais comum, causando de 85 a 90% dos casos. As infecções por outras espécies, como *Candida glabrata*, são mais resistentes aos antifúngicos e podem ser crônicas e recorrentes.

DOENÇAS EM FOCO 26.2

Células vaginais cobertas com bactérias em forma de bastão em um esfregaço vaginal.

Características dos tipos mais comuns de vaginites e vaginoses

Vaginite, ou inflamação da vagina, frequentemente acompanha as infecções vaginais. A vaginite pode ser causada por infecções microbianas. Algumas infecções são associadas à atividade sexual, enquanto outras, como a candidíase vaginal, não o são. Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que se encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. A causa da vaginite não pode ser determinada com base nos sintomas ou somente nos exames físicos. Normalmente, o diagnóstico envolve o exame de espécimes do fluido vaginal sob um microscópio (veja a foto). Utilize a tabela para identificar a infecção causada pelo organismo na figura.

Doença	Patógeno	Sintomas				Diagnóstico	Tratamento
		Odor, cor e consistência da descarga	*Quantidade da descarga*	*Aparência da mucosa vaginal*	*pH (o pH normal varia de 4,8 a 4,2)*		
Candidíase	Fungo *Candida albicans*	Fermentado ou nenhum; branca; coalhada	Variada	Seca e avermelhada	< 4,0	Exame microscópico	Clotrimazol; fluconazol
Vaginose bacteriana	Bactéria *Gardnerella vaginalis*	Piscoso; branco-acinzentada; capilar e bolhosa	Abundante	Rosada	> 4,5	Presença de células-alvo	Metronidazol
Tricomonase	Protozoário *Trichomona vaginalis*	Odor desagradável; amarelo-esverdeada; coalhada	Abundante	Emaciada e vermelha	5-6	Exame microscópico; sondas de DNA; anticorpos monoclonais	Metronidazol

C. albicans frequentemente cresce sobre as membranas mucosas da boca, do trato intestinal e do trato geniturinário (veja Doenças em Foco 26.2; veja também a Figura 21.17, página 601). As infecções normalmente são resultado do super crescimento de micro-organismos oportunistas, quando a competição da microbiota normal é suprimida pelo uso de antibióticos ou outros fatores. Como discutido no Capítulo 21, a *C. albicans* é a causa da **candidíase oral**. Esta levedura também é responsável por casos ocasionais de UNG em homens e por **candidíase vulvovaginal**, que é a causa mais comum de vaginite. Cerca de 75% de todas as mulheres já vivenciaram pelo menos um episódio.

As lesões da candidíase vulvovaginal lembram as da candidíase oral, porém produzem mais irritação, coceira intensa, uma descarga espessa, coalhada e amarela, com cheiro fermentado ou sem odor. *C. albicans*, a espécie de cândida responsável pela maioria dos casos, é um patógeno oportunista. Condições predisponentes incluem o uso de contraceptivos orais e a gestação, que causa um aumento do glicogênio na vagina (veja a discussão sobre a microbiota vaginal normal, no início deste capítulo). É provável que os hormônios sejam um fator; a candidíase é muito menos comum em meninas antes da puberdade ou em mulheres após a menopausa. As infecções por leveduras são um sintoma frequente em mulheres com diabetes não controlado; além disso, o uso de antibióticos de amplo espectro suprime a microbiota normal, responsável pela competição, levando a infecções fúngicas oportunistas. Assim, o diabetes e a antibioticoterapia são fatores predisponentes para a vaginite por *C. albicans*.

Uma infecção por levedura é diagnosticada pela identificação microscópica do fungo em raspados das lesões e por isolamento do fungo em cultura. O tratamento normalmente consiste em aplicação tópica de drogas antifúngicas de venda livre, como clotrimazol e miconazol. Um tratamento alternativo é uma dose única, por via oral, de fluconazol ou outro antifúngico azólico.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Que mudanças na microbiota bacteriana vaginal tendem a favorecer o crescimento da levedura *Candida albicans*? **26-8**

Figura 26.16 ***Trichomonas vaginalis*** **aderidas à superfície de uma célula epitelial em uma preparação de cultura celular.** Os flagelos são claramente visíveis.

Fonte: D. Petrin et al., Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis. ASM Clinical Microbiology Reviews* 11 (1998): 300-317.

P Há qualquer efeito prejudicial da infecção por este protozoário?

Protozoose do sistema reprodutivo

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

26-9 Discutir a epidemiologia da tricomoníase.

26-10 Listar as doenças do sistema reprodutivo que causam infecções congênitas e neonatais, e explicar como essas infecções podem ser prevenidas.

A única IST causada por um protozoário afeta somente mulheres. Embora seja uma infecção comum, não é muito conhecida.

Tricomoníase

O protozoário anaeróbico *Trichomonas vaginalis* frequentemente é um habitante normal da vagina em mulheres e da uretra em muitos homens (**Figura 26.16**). Este protozoário normalmente é transmitido por via sexual. Se a acidez normal da vagina for alterada, o protozoário pode suplantar o crescimento da população microbiana normal da mucosa genital e causar **tricomoníase** (os homens raramente apresentam qualquer sintoma como resultado da presença do protozoário). Esta condição frequentemente é acompanhada pela coinfecção com a gonorreia. Sua prevalência em certas clínicas de IST é de 25% ou mais. O corpo acumula leucócitos no local da infecção em resposta à infecção pelo protozoário. A descarga resultante é profusa, amarelo-esverdeada e caracterizada por um odor desagradável, sendo acompanhada por irritação e coceira. Cerca da metade dos casos, no entanto, é assintomática.

A incidência de tricomoníase é mais alta que a de gonorreia ou clamídia, mas é considerada relativamente benigna e não é uma doença notificável. Contudo, sabe-se que pode causar nascimento de bebês pré-termo e problemas associados a esta condição, como recém-nascido com baixo peso.

O diagnóstico normalmente é feito pelo exame microscópico e a identificação dos organismos na descarga. Eles também podem ser isolados e cultivados em meios laboratoriais. O patógeno pode ser encontrado no sêmen ou na urina de homens portadores. Novos testes rápidos com o uso de sondas de DNA e anticorpos monoclonais estão disponíveis atualmente. O tratamento é feito por via oral com metronidazol, administrado a ambos os parceiros sexuais, o que facilmente cura a infecção.

Painel de testes TORCH

Vimos neste Capítulo e nos anteriores, que várias doenças podem causar defeitos de nascimento em recém-nascidos quando a mãe gestante é infectada. TORCH é um acrônimo para o painel de testes que avalia anticorpos para estas infecções. A confirmação pode requerer testes adicionais. O painel é composto do seguinte: **T**oxoplasmose; **O**utros (como sífilis, hepatite B, enterovírus, vírus Epstein-Bar, vírus varicela-zoster); **R**ubéola; **C**itomegalovírus; vírus **H**erpes simples).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Quais são os sintomas da presença de *Trichomonas vaginalis* no trato reprodutivo masculino? **26-9**

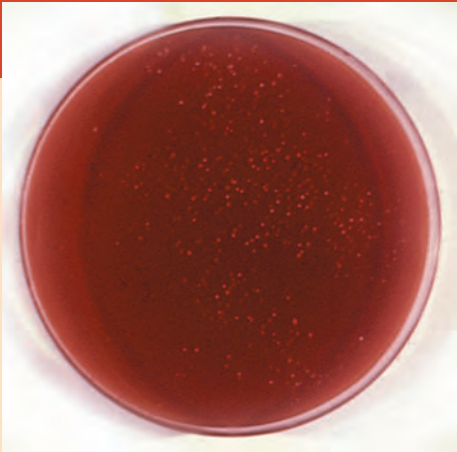
✓ Qual o propósito do painel de testes TORCH? **26-10**

* * *

As principais doenças microbianas dos sistemas reprodutivo e urinário estão resumidas em Doenças em Foco 26.3.

DOENÇAS EM FOCO 26.3

Doenças microbianas do sistema reprodutivo

Diagnóstico diferencial é o processo de identificação de uma doença a partir de uma lista de doenças possíveis que encaixam no painel de informações derivado do exame do paciente. Um diagnóstico diferencial é importante para que se inicie o tratamento e para os testes laboratoriais. Por exemplo, uma mulher de 26 anos teve dor abdominal e febre. Culturas cultivadas em ambiente de alta concentração de CO_2 revelaram diplococos gram-negativos. Utilize a tabela para identificar as infecções que poderiam causar estes sintomas.

Diplococo gram-negativo em Ágar Thayer-Matin.

Doença	Patógeno	Porta de entrada	Tratamento
DOENÇAS BACTERIANAS			
Gonorreia	*Neisseria gonorrhoeae*	Homens: dor ao urinar e descarga purulenta Mulheres: poucos sintomas, mas possíveis complicações, como DIP	Cefalosporinas
Uretrite não gonocócica (UNG)	*Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum*	Dor ao urinar e descarga aquosa; em mulheres, possíveis complicações, como DIP	Doxiciclina, azitromicina
Doença Inflamatória pélvica (DIP)	*N. gonorrhoeae* *C. trachomatis*	Dor abdominal crônica; possível infertilidade	Penicilina benzatina
Sífilis	*Treponema pallidum*	Dor e desconforto no local inicial da infecção, erupções de pele tardias e febre leve; os estágios finais podem apresentar lesões muito graves, dano aos sistemas cardiovascular e neurológico	Doxiciclina
Linfogranuloma venéreo (LGV)	*C. trachomatis*	Linfonodos edemaciados na virilha	Eritromicina; ceftriaxona
Cancroide (cancro mole)	*Haemophilus ducreyi*	Úlceras dolorosas na genitália; linfonodos edemaciados na virilha	
Vaginose bacteriana	Veja Doenças em Foco 26.2, página 759		
DOENÇAS VIRAIS			
Herpes genital	Vírus herpes simples tipo 2; HSV tipo 1	Vesículas dolorosas na região genital	Aciclovir
Verrugas genitais	Papilomavírus humano	Verrugas na área genital	Podofilox; imiquimode; vacina preventiva
Aids – veja o Capítulo 19, p. 539-548			
DOENÇA FÚNGICA			
Candidíase	Veja Doenças em Foco 26.2, página 759		
PROTOZOOSE			
Tricomoníase	Veja Doenças em Foco 26.2, página 759		

RESUMO PARA ESTUDO

Introdução (p. 743)

1. O sistema urinário regula a composição química e o volume do sangue e excreta nitrogênio e água.
2. O sistema reprodutivo produz gametas para a reprodução e, na mulher, fornece suporte para o desenvolvimento do embrião.
3. Doenças microbianas desses sistemas podem resultar em infecção de uma fonte externa ou infecções oportunistas por membros da microbiota normal.

Estrutura e função do sistema urinário

(p. 744)

1. A urina é transportada dos rins à bexiga através dos ureteres e é eliminada através da uretra.
2. As válvulas impedem o fluxo reverso da urina para a bexiga e os rins.
3. A ação do fluxo urinário e a acidez normal da urina possuem valor antimicrobiano.

Estrutura e função do sistema reprodutivo (p. 744, 745)

1. O sistema reprodutivo feminino consiste em dois ovários, duas tubas uterinas, útero, cérvice, vagina e genitália externa.
2. O sistema reprodutivo masculino consiste em dois testículos, ductos, glândulas acessórias e pênis; o fluido seminal é liberado do corpo masculino através da uretra.

Microbiota normal dos sistemas urinário e reprodutivo (p. 745)

1. A bexiga e o trato urinário superior são estéreis sob condições normais.
2. Os *Lactobacillus* dominam a microbiota vaginal durante os anos reprodutivos.
3. A uretra masculina normalmente é estéril.

DOENÇAS DO SISTEMA URINÁRIO (p. 746, 747)

Doenças bacterianas do sistema urinário (p. 746, 747)

1. Uretrite, cistite e ureterite são termos que descrevem a inflamação dos tecidos do trato urinário inferior.
2. A pielonefrite pode resultar de infecções do trato urinário inferior ou de infecções bacterianas sistêmicas.
3. Bactérias gram-negativas oportunistas do intestino frequentemente causam infecções do trato urinário.
4. Infecções nosocomiais após cateterizações ocorrem no sistema urinário. *E. coli* causa mais da metade dessas infecções.
5. O tratamento das infecções do trato urinário depende do isolamento e da verificação da sensibilidade a antibióticos dos agentes causadores.

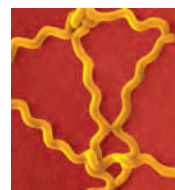
Cistite (p. 746)

6. A inflamação da bexiga, ou cistite, é comum em mulheres.
7. Os micro-organismos na abertura da uretra e ao longo do seu comprimento, a higiene pessoal inadequada e o intercurso sexual contribuem para a alta incidência de cistite em mulheres.
8. As etiologias mais comuns das cistites são *E. coli* e *Staphylococcus saprophyticus*.

Pielonefrite (p. 746)

9. A inflamação dos rins, ou pielonefrite, normalmente é uma complicação das infecções do trato urinário inferior.
10. Cerca de 75% dos casos de pielonefrite são causados por *E. coli*.

Leptospirose (p. 746, 747)

11. A espiroqueta *Leptospira interrogans* é a causa da leptospirose.
12. A doença é transmitida aos seres humanos por água contaminada com urina.
13. A leptospirose é caracterizada por calafrios, febre, dor de cabeça e dores musculares.

DOENÇAS DO SISTEMA REPRODUTIVO (p. 747-761)

Doenças bacterianas do sistema reprodutivo (p. 747-756)

1. A maioria das doenças do sistema reprodutivo é sexualmente transmissível (DSTs), agora denominadas infecções sexualmente transmissíveis (ISTs).
2. A maioria das ISTs pode ser prevenida pelo uso de preservativos e tratada com antibióticos.

Gonorreia (p. 747-750)

3. *Neisseria gonorrhoeae* causa a gonorreia.
4. A gonorreia é a doença notificável mais comum nos Estados Unidos.
5. *N. gonorrhoeae* liga-se às células da mucosa orofaríngea, da genitália, dos olhos e do reto por meio de suas fímbrias.
6. Os sintomas nos homens são dor ao urinar e descarga de pus. O bloqueio da uretra e a esterilidade são complicações dos casos não tratados.
7. As mulheres podem ser assintomáticas, a menos que a infecção se dissemine para o útero e as tubas uterinas (veja doença inflamatória pélvica).
8. Endocardite gonorreica, meningite gonorreica e artrite gonorreica são complicações que afetam ambos os sexos se a infecção gonorreica não for tratada.
9. A oftalmia neonatal é uma infecção ocular adquirida por lactentes durante a passagem através do canal do parto de uma mãe infectada.
10. A gonorreia é diagnosticada por ELISA ou amplificação do ácido nucleico.

Uretrite não gonocócica (UNG) (p. 750, 751)

11. A uretrite não gonocócica (UNG), ou uretrite inespecífica, é uma inflamação da uretra não causada por *N. gonorrhoeae*.
12. A maioria dos casos de UNG é causada por *Chlamydia trachomatis*.
13. A infecção por *C. trachomatis* é a mais comum das ISTs.
14. Os sintomas de UNG frequentemente são leves ou ausentes, embora inflamação da tuba uterina e esterilidade possam ocorrer.
15. A *C. trachomatis* pode ser transmitida aos olhos dos neonatos no momento do parto.
16. O diagnóstico é baseado na detecção do DNA clamidial na urina.
17. Os micro-organismos *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* também causam UNG.

Doença inflamatória pélvica (DIP) (p. 751, 752)

18. A infecção bacteriana extensa dos órgãos pélvicos femininos, especialmente do sistema reprodutivo, é chamada de doença inflamatória pélvica (DIP).
19. A DIP é causada por *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* e outras bactérias que ganham acesso à tuba uterina. A infecção das tubas uterinas é chamada de salpingite.
20. A DIP pode resultar em bloqueio das tubas uterinas e esterilidade.

Sífilis (p. 752-755)

21. A sífilis é causada por *Treponema pallidum*, uma espiroqueta que não é cultivada *in vitro*. Culturas laboratoriais são cultivadas em coelhos ou cultura de células.
22. A lesão primária é um pequeno cancro de base endurecida no local da infecção. A bactéria então invade os sistemas sanguíneo e linfático, e o cancro cura espontaneamente.
23. O surgimento de uma erupção cutânea e de mucosa amplamente disseminada marca o estágio secundário. As espiroquetas estão presentes nas lesões da erupção.
24. O paciente entra no período latente após as lesões do período secundário cicatrizarem espontaneamente.
25. Pelo menos 10 anos após as lesões secundárias, lesões terciárias denominadas lesões gomosas podem surgir em muitos órgãos.
26. A sífilis congênita, resultante do *T. pallidum*, cruza a placenta durante o período latente e pode causar dano neurológico aos recém-nascidos.
27. O *T. pallidum* é identificável nos fluidos das lesões primárias e secundárias sob microscopia de campo escuro.
28. Muitos testes sorológicos, como VDRL, RPR e FTA-ABS, podem ser utilizados para detectar a presença de anticorpos contra o *T. pallidum* durante qualquer estágio da doença.

Linfogranuloma venéreo (LGV) (p. 755)

29. *C. trachomatis* causa o linfogranuloma venéreo (LGV), que é principalmente uma doença de regiões tropicais e subtropicais.
30. As lesões iniciais aparecem na genitália e curam sem cicatriz.
31. As bactérias se disseminam ao sistema linfático e causam aumento dos linfonodos, obstrução dos vasos linfáticos e edema da genitália externa.
32. As bactérias são isoladas e identificadas do pus coletado dos linfonodos infectados.

Cancroide (cancro mole) (p. 756)

33. O cancroide, uma ulcera edemaciada e dolorosa das membranas mucosas da genitália ou da boca, é causado por *Haemophilus ducreyi*.

Vaginose bacteriana (p. 756)

34. A vaginose bacteriana é uma infecção sem inflamação causada por *Gardnerella vaginalis*.
35. O diagnóstico da *G. vaginalis* tem como base aumento do pH vaginal, cheiro piscoso e presença de células indicadoras.

Doenças virais do sistema reprodutivo (p. 757, 758)

Herpes genital (p.757, 758)

1. Os vírus herpes simples (HSV-1 e HSV-2) causam herpes genital.
2. Os sintomas da infecção são dor ao urinar, irritação genital e presença de vesículas cheias de fluido.
3. Os vírus podem entrar em um período de latência nas células nervosas. As vesículas reaparecem após um trauma ou alteração hormonal.
4. Herpes neonatal é contraído durante o estágio de desenvolvimento fetal ou durante o nascimento. Ele pode resultar em danos neuronais ou morte do bebê.

Verrugas genitais (p. 758)

5. Os papilomavírus humanos causam as verrugas.
6. Alguns papilomavírus humanos que causam verrugas genitais têm sido associados ao câncer de cérvice.

Aids (p. 758)

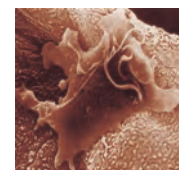
7. A Aids é uma doença sexualmente transmissível do sistema imune (veja o Capítulo 19, páginas 539-548).

Doenças fúngicas do sistema reprodutivo (p. 758, 759)

Candidíase (p. 758, 759)

1. *Candida albicans* causa UNG em homens e candidíase vulvovaginal ou infecção leveduriforme em mulheres.
2. Candidíase vulvovaginal é caracterizada por lesões que produzem coceira e irritação.
3. Os fatores predisponentes incluem gravidez, diabetes, tumores e quimioterapia antibacteriana de amplo espectro.
4. O diagnóstico tem como base a observação do fungo e seu isolamento das lesões.

Protozoose do sistema reprodutivo (p. 760, 761)

1. *Trichomonas vaginalis* causa tricomoníase quando o pH da vagina aumenta.
2. O diagnóstico tem como base a observação do protozoário nas descargas purulentas do local da infecção.

Painel de testes TORCH (p. 760)

3. Os anticorpos contra doenças específicas que podem infectar o útero são detectados pelos testes TORCH.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. **DESENHE** Trace o caminho feito pela *E. coli* para causar cistite. Faça o mesmo para a pielonefrite. Trace o caminho feito pela *Neisseria gonorrhoeae* para causar DIP.

2. Como as infecções do trato urinário são transmitidas?
3. Explique por que a *E. coli* frequentemente está implicada na cistite em mulheres. Liste alguns fatores predisponentes para a cistite.
4. Cite um organismo que causa pielonefrite. Quais são as portas de entrada para os micro-organismos que causam a pielonefrite?
5. Complete a seguinte tabela:

Doença	Agente causador	Sintomas	Métodos de diagnóstico	Tratamento
Vaginose bacteriana				
Gonorreia				
Sífilis				
DIP				
UNG				
LGV				
Cancroide				

6. A leptospirose é uma infecção renal de seres humanos e outros animais. Como essa doença é transmitida? Que tipos de atividade poderiam aumentar a exposição a essa doença? Qual o agente etiológico?
7. Descreva os sintomas do herpes genital. Qual o agente causador? Quando essa infecção tem menor probabilidade de ser transmitida?
8. Cite um fungo e um protozoário que podem causar infecção do sistema reprodutivo. Que sintomas poderiam levá-lo a suspeitar dessas infecções?
9. Liste as infecções genitais que causam infecções neonatais e congênitas. Como a transmissão ao feto ou neonato pode ser prevenida?

Múltipla escolha

1. Qual dos seguintes normalmente é transmitido por água contaminada?
   - **a.** *Chlamydia.*
   - **b.** Leptospirose.
   - **c.** Sífilis.
   - **d.** Tricomoníase.
   - **e.** Nenhuma das alternativas.

Use as seguintes opções para responder as questões 2 a 5:
   - **a.** *Candida.*
   - **b.** *Chlamydia.*
   - **c.** *Gardnerella.*
   - **d.** *Neisseria.*
   - **e.** *Trichomonas.*

2. O exame microscópico do esfregaço vaginal mostra eucariotos flagelados.
3. O exame microscópico do esfregaço vaginal mostra células eucarióticas ovoides.
4. O exame microscópico do esfregaço vaginal mostra células epiteliais cobertas com bactérias.
5. O exame microscópico do esfregaço vaginal mostra cocos gram-negativos nos fagócitos.

Use as seguintes opções para responder as questões 6 a 8:
   - **a.** Candidíase.
   - **b.** Vaginose bacteriana.
   - **c.** Herpes genital.
   - **d.** Linfogranuloma venéreo.
   - **e.** Tricomoníase.

6. Difícil de tratar com quimioterapia.
7. Vesículas cheias de fluido.
8. Descarga vaginal espumante, com odor de peixe.

Utilize as seguintes opções para responder as questões 9 e 10:
   - **a.** *Chlamydia trachomatis.*
   - **b.** *Escherichia coli.*
   - **c.** *Mycobacterium hominis.*
   - **d.** *Staphylococcus saprophyticus.*

9. A causa mais comum de cistite.
10. Nos casos de UNG, o diagnóstico é feito utilizando PCR para detectar o DNA microbiano.

Pensamento crítico

1. Uma doença cutânea tropical chamada de *bouba* é transmitida por contato direto. O agente causador, o *Treponema pallidum pertenue*, é indistinguível do *T. pallidum*. A sífilis, epidêmica na Europa, coincidiu com o retorno de Colombo do Novo Mundo. Como o *T. pallidum pertenue* poderia ter evoluído para *T. pallidum* no clima temperado da Europa?
2. Por que o uso frequente de ducha pode ser um fator predisponente para vaginose bacteriana, candidíase vulvovaginal ou tricomoníase?
3. A *Neisseria* é cultivada em meio Thayer-Martin, que é composto de ágar-chocolate e nistadina, incubados em um ambiente de CO_2 a 5%. Como esse meio é seletivo para a *Neisseria*?

4. A lista a seguir é uma chave para os micro-organismos selecionados que causam infecção geniturinária. Complete-a listando os gêneros discutidos neste capítulo nos espaços em branco que correspondem a suas respectivas características.

Bactérias gram-negativas
- Espiroquetas
  - Aeróbicos ______________________
  - Anaeróbicos ______________________
- Cocos
  - Oxidase-positivos ______________________
- Bacilos imóveis
  - Requerimento de fator X ______________________
  - Parede gram-positiva ______________________
- Parasitas intracelulares obrigatórios ______________________
- Sem parede celular
  - Urease-positivos ______________________
  - Urease-negativos ______________________
- Fungos
  - Pseudo-hifas ______________________
- Protozoários
  - Flagelados ______________________
- Nenhum organismo observado/cultivado do paciente ____________

Aplicações clínicas

1. Uma mulher de 19 anos, previamente saudável, foi admitida em um hospital após dois dias de náusea, vômito, dores de cabeça e rigidez de pescoço. O fluido cerebrospinal e a cultura cervical mostraram diplococos gram-negativos em leucócitos; uma cultura de sangue foi negativa. Que doença ela apresentava? Como provavelmente foi adquirida?

2. Uma mulher de 28 anos foi admitida em um hospital de Wisconsin com uma história de uma semana de artrite do joelho esquerdo. Quatro dias mais tarde, um homem de 32 anos foi examinado com uma história de duas semanas de uretrite e edema e dor no pulso esquerdo. Uma mulher de 20 anos examinada em um hospital da Filadélfia apresentou dor no joelho direito, no tornozelo esquerdo e no pulso esquerdo por três dias. Os patógenos cultivados do fluido sinovial ou da cultura uretral eram diplococos gram-negativos que requeriam prolina para crescer. Os testes de sensibilidade aos antibióticos forneceram os seguintes resultados:

Antibiótico	**MIC teste (μg/mL)**	**Suscetibilidade MIC (μg/mL)**
Cefoxitina	0,5	≤ 2
Penicilina	8	≤ 0,06
Espectinomicina	64	≤ 32
Tetraciclina	4	≤ 0,25

Qual o patógeno, e como essa doença é transmitida?
Quais antibióticos deveriam ser usados no tratamento?
Qual a evidência de que esses casos estão relacionados?

3. Utilizando as seguintes informações, determine qual é a doença e como a doença do lactante poderia ter sido prevenida:

11 de maio:	Uma mulher de 23 anos realiza seu primeiro exame pré-natal. Ela está com quatro meses e meio de gravidez. O resultado de seu VDRL é negativo.
6 de junho:	A mulher retorna a sua médica reclamando de uma lesão labial de poucos dias de duração. Uma biópsia é negativa para qualquer malignidade, e o resultado dos testes para herpes é negativo.
1 de julho:	A mulher retorna a sua médica porque a lesão labial continua a causar algum desconforto.
15 de setembro:	O pai do bebê tem múltiplas lesões penianas e erupções generalizadas.
25 de setembro:	A mulher dá à luz seu bebê. O resultado de seu RPR é 32, e o do bebê é 128.
1 de outubro:	A mulher leva seu bebê ao pediatra porque ele está letárgico. O pediatra diz para não se preocupar pois o bebê está saudável.
2 de outubro:	O pai do bebê tem erupções cutâneas persistentes no corpo e também apresenta erupções palmares e plantares.
8 de novembro:	O bebê fica doente, de forma aguda, e é hospitalizado com pneumonia. O clínico que o admitiu encontra sinais de osteocondrite.

27 Microbiologia Ambiental

Nos capítulos anteriores, o nosso foco foi principalmente a capacidade dos micro-organismos de causar doenças. Neste capítulo, você vai aprender sobre muitos dos aspectos positivos dos micro-organismos no ambiente. Bactérias e outros micro-organismos são, de fato, essenciais para a manutenção da vida na Terra.

Os micro-organismos, especialmente aqueles que pertencem aos Domínios *Bacteria* e *Archaea*, vivem nos mais variados habitats da Terra. Eles são encontrados em fontes de água fervente, e mais de 5.000 bactérias foram isoladas de cada milímetro de neve no Polo Sul. Micro-organismos foram coletados de minúsculas aberturas em rochas a um quilômetro de profundidade. Explorações nas profundezas do oceano revelam um grande número de micro-organismos que vivem na eterna escuridão e sujeitos a incríveis pressões. Os micro-organismos também são encontrados em riachos formados nas montanhas pelo derretimento da neve e em águas quase saturadas de sal, tais como aquelas do Mar Morto.

SOB O MICROSCÓPIO

Anabaena azollae. Estes organismos (cadeia de células) são cianobactérias fixadoras de nitrogênio que vivem simbioticamente dentro da cavidade da folha da planta de água doce, *Azolla*.

P&R

O que estes micro-organismos têm causado ao cultivo de arroz na Ásia?

Procure pela resposta neste capítulo.

Diversidade microbiana e habitats

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

27-1 Definir *extremófilos* e identificar dois habitats "extremos".

27-2 Definir *simbiose.*

27-3 Definir *micorriza,* diferenciar endomicorriza de ectomicorriza e dar um exemplo de cada.

A diversidade de populações microbianas indica que elas tiram proveito de qualquer nicho encontrado em seu ambiente. Diferentes quantidades de oxigênio, luz ou nutrientes podem existir dentro de alguns milímetros de solo. Como uma população de organismos aeróbicos utiliza todo o oxigênio disponível, os anaeróbicos são capazes de se desenvolver. Se o solo é perturbado por aragem, minhocas ou outras atividades, os aeróbicos terão novamente capacidade de crescer, repetindo essa sucessão.

Os micro-organismos que vivem em condições extremas de temperatura, acidez, alcalinidade ou salinidade são denominados **extremófilos**. Muitos são membros das arquibactérias. As enzimas (**extremozimas)** que tornam o crescimento possível sob essas condições têm sido de grande interesse para as indústrias, porque podem tolerar extremos de temperatura, salinidade e pH que poderiam inativar outras enzimas. O organismo *Thermus aquaticus*, encontrado em fontes de água quente no Parque Nacional *Yellowstone*, é uma fonte da enzima *Taq-polimerase* usada na técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR, de *polymerase chain reaction*) (veja a página 251). A enzima funciona em temperaturas superiores a 95°C, o ponto de ebulição da água onde o organismo habita. Em outro extremo, a bactéria tem sido encontrada em folhas congeladas na Antártida e na Groenlândia, de alguma maneira sobrevivendo a temperaturas abaixo de –40°C, dentro de uma película de água com apenas cerca de três moléculas de espessura. No deserto sem chuva do Atacama no Chile, uma espécie de cianobactéria vive dentro de cristais de sal. Ela absorve a umidade da atmosfera todas as noites e sua energia é obtida da luz solar.

Os micro-organismos vivem em um ambiente extremamente competitivo e devem explorar todas as vantagens que puderem. Eles devem metabolizar nutrientes comuns mais rapidamente ou utilizar nutrientes que os micro-organismos competidores não podem metabolizar. Alguns, como a bactéria do ácido lático, que é muito útil na produção de laticínios, são capazes de tornar o nicho ambiental inóspito para os organismos competidores. As bactérias do ácido lático são incapazes de utilizar o oxigênio como aceptor de elétrons e somente podem fermentar açúcares até ácido lático, deixando a maior parte da energia sem utilização. Entretanto, a acidez inibe o crescimento dos micro-organismos mais eficientes e competidores.

Simbiose

Recorde do Capítulo 14 que **simbiose** é uma associação fechada de dois organismos diferentes vivendo juntos e que beneficia um ou ambos. Economicamente, o exemplo mais importante de uma simbiose animal-micro-organismo é a dos ruminantes, animais que possuem um órgão digestório denominado *rúmen.* Ruminantes, como bovinos e ovinos, pastam plantas ricas em celulose. As bactérias no rúmen fermentam a celulose em compostos que são absorvidos pelo sangue do animal, para serem utilizados posteriormente como fonte de carbono e energia. Os protozoários do rúmen mantêm a população bacteriana sob controle alimentando-se dela.

Uma contribuição muito importante para o crescimento das plantas é feita por **micorrizas**, ou micorrizas simbióticas (*mico* = fungo; *rizo* = raiz). Existem dois tipos desses fungos: as *endomicorrizas,* também conhecidas como *micorrizas vesicular-arbusculares,* e as *ectomicorrizas.* Ambos os tipos funcionam como pelos radiculares nas plantas; ou seja, eles aumentam a área de superfície através da qual a planta pode absorver nutrientes, especialmente fósforo, que não é muito móvel no solo.

As micorrizas vesicular-arbusculares formam grandes esporos que podem ser facilmente isolados do solo por peneiração. As hifas formadas a partir desses esporos germinados penetram na raiz da planta e formam dois tipos de estruturas: vesículas e arbúsculos. As **vesículas** são corpos ovais lisos que provavelmente funcionam como estruturas de armazenamento. Os **arbúsculos,** pequenas estruturas em forma de arbusto, são formados dentro das células das plantas (**Figura 27.1a**). Os nutrientes percorrem o solo através das hifas fúngicas para estes arbúsculos, os quais gradualmente se rompem e liberam os nutrientes para as plantas. Muitas gramíneas e outras plantas são surpreendentemente dependentes desses fungos para um crescimento adequado, e sua presença é quase universal no reino das plantas.

As ectomicorrizas infectam principalmente árvores como o pinho e o carvalho. Os fungos formam uma *camada* micelial sobre as raízes menores das árvores (**Figura 27.1b**). As ectomicorrizas não formam vesículas ou arbúsculos. Administradores de fazendas de plantação de pinho devem assegurar que as mudas sejam inoculadas com o solo contendo micorrizas efetivas (**Figure 27.2a**).

As trufas, conhecidas como iguarias, são ectomicorrizas, normalmente encontradas em carvalhos (**Figura 27.2b**). Na Europa, porcos ou cachorros adestrados são usados para encontrá-las pelo faro e desenterrá-las. Para um porco, macho ou fêmea, o mais importante do cheiro da trufa é o dimetil sulfeto, que também é responsável pelo odor do repolho. Na natureza, a proliferação dos fungos depende da ingestão por um animal, que distribui os esporos não digeridos para novos locais. Cada vez mais o cultivo de trufas tem sido explorado na agricultura. Carvalhos são plantados em grupos e inoculados artificialmente com esporos de fungos cultivados em laboratório ou extraídos de trufas maduras.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Você pode identificar dois ambientes extremos de organismos extremófilos? **27-1**

✓ Qual é a definição de *simbiose*? **27-2**

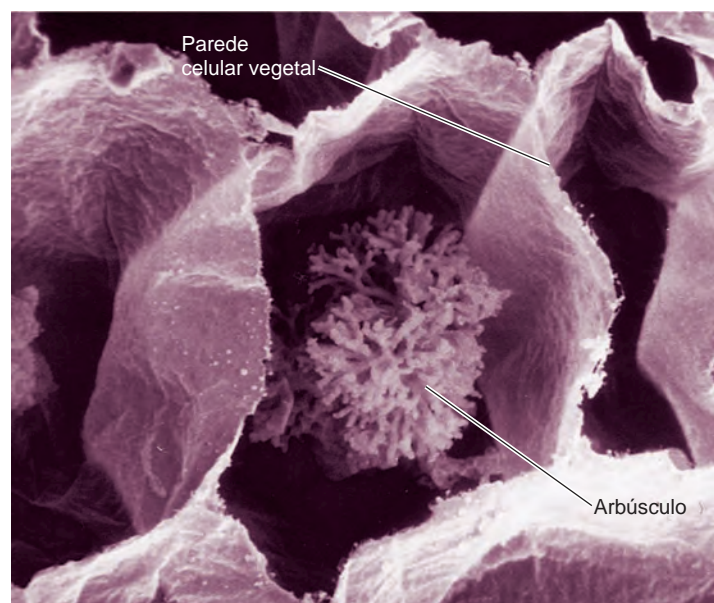
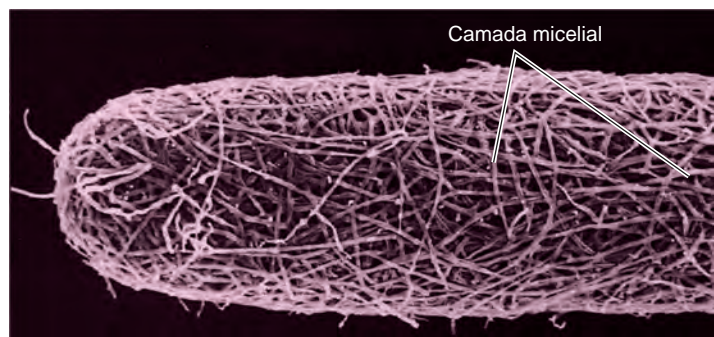
✓ A trufa é um exemplo de endomicorriza ou ectomicorriza? **27-3**

(a) Endomicorriza (**micorriza vesicular-arbuscular**). Um arbúsculo de uma endomicorriza totalmente desenvolvido em uma célula vegetal. (O termo arbúsculo significa pequeno arbusto.) Assim que o arbúsculo se decompõe, ele libera nutrientes para a planta. MEV 12 μm

(b) Ectomicorriza. A camada micelial de um fungo ectomicorrízico típico recobre a raiz de um eucalipto. MEV 100 μm

Figura 27.1 Micorriza.

P Qual o valor da micorriza para a planta?

Microbiologia do solo e ciclos biogeoquímicos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

27-4 Definir *ciclo biogeoquímico*.

27-5 Esboçar o ciclo do carbono e explicar o papel dos micro-organismos neste ciclo.

27-6 Esboçar o ciclo do nitrogênio e explicar o papel dos micro-organismos neste ciclo.

27-7 Definir *amonificação, nitrificação, desnitrificação* e *fixação do nitrogênio*.

27-8 Esboçar o ciclo do enxofre e explicar o papel dos micro-organismos neste ciclo.

27-9 Descrever como uma comunidade ecológica pode existir sem a energia da luz.

27-10 Comparar e contrastar os ciclos do carbono e do fósforo.

27-11 Dar dois exemplos do uso de bactérias para remover poluentes.

27-12 Definir *biorremediação*.

Bilhões de organismos, incluindo aqueles que são microscópicos, bem como grandes insetos e minhocas, formam uma comunidade viva e muito ativa no solo. Um solo típico tem milhões de bactérias em cada grama. Um grama de solo pode parecer uma amostra pequena, mas pode fornecer algumas estatísticas surpreendentes. Estima-se que deva ter 20.000 metros quadrados de área de superfície. O número de bactérias nessa amostra pode ser de aproximadamente 1 bilhão (embora somente cerca de 1% possa ser cultivado), e ela deve conter mais de um quilômetro de hifas de fungos. Mesmo assim, somente uma minúscula fração da área de superfície disponível em um grama de solo é colonizada por micro-organismos. A população microbiana do solo é maior a poucos centímetros do topo e diminui rapidamente com a profundidade. As bactérias são os organismos mais numerosos no solo. Embora actinomicetos sejam bactérias, eles em geral são considerados separadamente.

Populações de bactérias do solo geralmente são estimadas utilizando-se contagem em placas em meio nutriente, e os números atuais são provavelmente subestimados por esse método. Nenhum meio nutriente simples ou condição de crescimento pode satisfazer todos os requisitos nutricionais e outras condições dos micro-organismos do solo.

Podemos pensar no solo como um "fogo biológico". Uma folha caindo de uma árvore é consumida por esse "fogo", assim como os micro-organismos do solo metabolizam a matéria orgânica dessas folhas. Elementos da folha entram nos **ciclos biogeoquímicos** do carbono, do nitrogênio e do enxofre, que serão discutidos neste capítulo. Nos ciclos biogeoquímicos, os elementos são oxidados e reduzidos por micro-organismos para satisfazer as suas necessidades metabólicas. (Veja a discussão de oxidação-redução no Capítulo 5, página 122.) Sem os ciclos biogeoquímicos, a vida na Terra deixaria de existir.

Ciclo do carbono

O ciclo biogeoquímico primário é o **ciclo do carbono** (**Figura 27.3**). Todos os organismos, incluindo plantas, micro-organismos e animais, contêm grandes quantidades de carbono na forma de compostos orgânicos, como celulose, amidos, gorduras e proteínas. Vamos focar a atenção no modo como estes compostos orgânicos são formados.

Revendo o Capítulo 5, os autotróficos realizam um papel essencial para a vida na Terra pela redução do dióxido de carbono para formar matéria orgânica. Quando você olha uma árvore, você deve pensar que sua massa vem do solo onde ela cresce. Na verdade, sua grande massa de celulose é derivada de 0,03% do dióxido de carbono na atmosfera. Isso ocorre como um resultado da fotossíntese, a primeira etapa do ciclo do carbono na qual os fototróficos, como as cianobactérias, as plantas verdes, as algas e as bactérias verdes e púrpuras sulfurosas, *fixam* (incorporam) o dióxido de carbono em matéria orgânica usando a energia da luz solar.

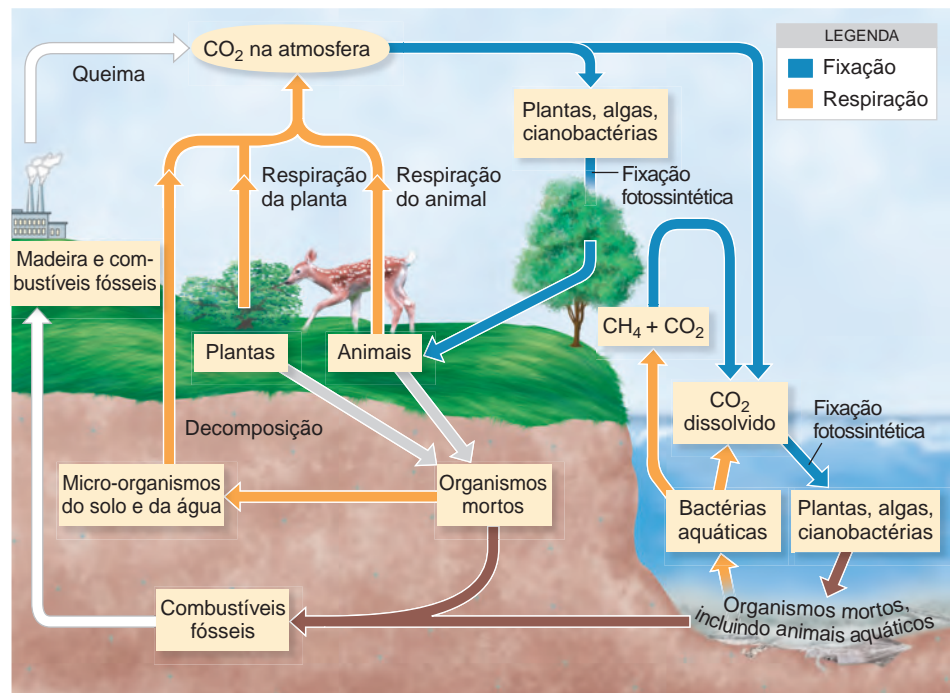
Figura 27.2 As micorrizas e seu considerável valor comercial.

P Por que as micorrizas são importantes para a absorção de fósforo?

(a) A infecção por micorriza influencia fortemente o crescimento de muitas plantas. O crescimento relativo de duas mudas de pinho é mostrado: a muda da esquerda foi inoculada com micorrizas; a muda da direita não.

(b) Trufas. Das três trufas mostradas, uma foi cortada para mostrar seu interior.

Figura 27.3 O ciclo do carbono. Em uma escala global, o retorno do CO_2 para a atmosfera pela respiração equilibra sua remoção pela fixação. Entretanto, a queima de madeira e combustíveis fósseis adiciona mais CO_2 à atmosfera; como resultado, a quantidade de CO_2 atmosférico está constantemente aumentando.

P Como o acúmulo de dióxido de carbono na atmosfera afeta o clima da Terra?

Na próxima etapa do ciclo, quimio-heterotróficos como animais e protozoários alimentam-se de autotróficos e podem, por sua vez, ser consumidos por outros animais. Desse modo, como os componentes orgânicos dos autotróficos são digeridos e ressintetizados, os átomos de carbono do dióxido de carbono são transferidos de organismo para organismo na cadeia alimentar.

Quimio-heterotróficos, incluindo os animais, utilizam algumas moléculas orgânicas para satisfazer suas necessidades de energia. Quando essa energia é liberada por meio da respiração, o dióxido de carbono imediatamente se torna disponível para iniciar novamente o ciclo. Grande parte do carbono permanece dentro dos organismos até que eles excretem o carbono ou morram. Quando plantas e animais morrem, esses compostos orgânicos são decompostos por bactérias e fungos. Durante a decomposição, os compostos orgânicos são oxidados, e o CO_2 retorna para o ciclo.

O carbono é armazenado em rochas, como a pedra calcária ($CaCO_3$), e é dissolvido como íon carbonato (CO_3^{2-}) nos oceanos. Existem muitos depósitos de matéria orgânica fóssil na forma de combustível fóssil, como o carvão e o petróleo. A queima desses combustíveis fósseis libera CO_2, aumentando a quantidade de CO_2

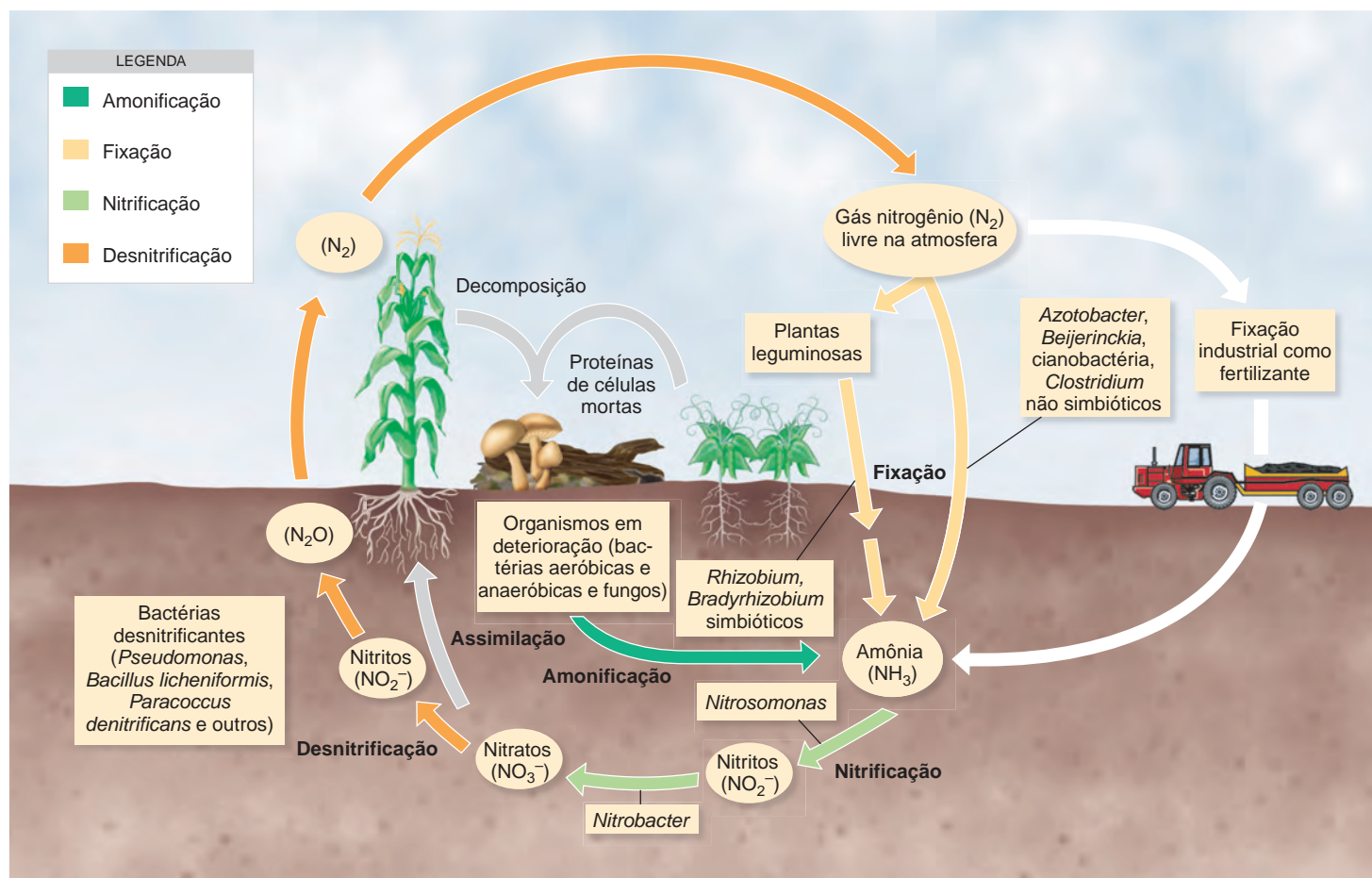



Figura 27.4 O ciclo do nitrogênio. Em geral, o nitrogênio na atmosfera passa por fixação, nitrificação e desnitrificação. Os nitratos assimilados pelas plantas e pelos animais após a nitrificação passam por decomposição, amonificação e, então, nitrificação novamente.

P Quais processos são realizados exclusivamente pelas bactérias?

na atmosfera. Muitos cientistas acreditam que o aumento do dióxido de carbono na atmosfera possa estar causando um **aquecimento global** da Terra.

Um aspecto interessante do ciclo do carbono é o gás metano (CH_4). Estima-se que sedimentos do fundo do oceano contenham 10 trilhões de toneladas de metano, aproximadamente duas vezes mais a quantia de depósitos de combustíveis fósseis da Terra, como o carvão e o petróleo. Além disso, as bactérias metanogênicas nas profundezas do oceano estão constantemente produzindo mais (veja Microbiota marinha na página 777). O metano é muito mais potente como um gás de efeito estufa que o dióxido de carbono, e o ambiente da Terra seria perigosamente alterado se todo esse gás escapasse para a atmosfera.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✔ Qual ciclo biogeoquímico é muito conhecido por contribuir para o aquecimento global? **27-4**

✔ Qual é a principal fonte de carbono na massa formadora de celulose de uma floresta? **27-5**

Ciclo do nitrogênio

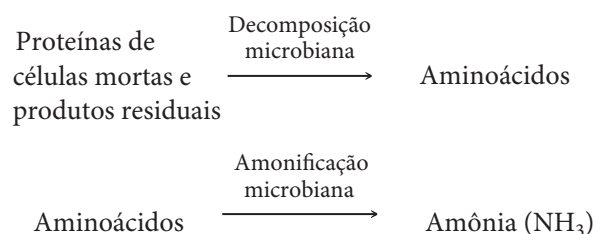
O **ciclo do nitrogênio** é mostrado na **Figura 27.4**. Todos os organismos necessitam de nitrogênio para sintetizar proteínas, ácidos nucleicos e outros compostos contendo nitrogênio. O nitrogênio molecular (N_2) compõe cerca de 80% da atmosfera da Terra. Para a assimilação e a utilização do nitrogênio pelas plantas, ele deve ser fixado, isto é, absorvido e combinado em compostos orgânicos. As atividades de micro-organismos específicos são importantes para a conversão do nitrogênio em formas aproveitáveis.

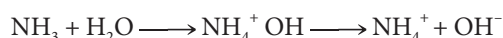
Amonificação

Quase todo o nitrogênio do solo existe em moléculas orgânicas, principalmente em proteínas. Quando um organismo morre, o processo de decomposição microbiana resulta na quebra hidrolí-

tica de proteínas em aminoácidos. Em um processo denominado **desaminação**, os grupamentos amina dos aminoácidos são removidos e convertidos em amônia (NH_3). Essa liberação de amônia é chamada de **amonificação** (veja a Figura 27.4). A amonificação, realizada por diversas bactérias e fungos, pode ser representada da seguinte forma:

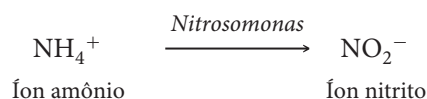
$$\text{Proteínas de células mortas e produtos residuais} \xrightarrow[\text{microbiana}]{\text{Decomposição}} \text{Aminoácidos}$$

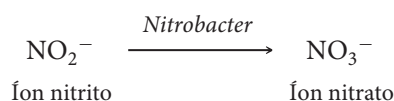
$$\text{Aminoácidos} \xrightarrow[\text{microbiana}]{\text{Amonificação}} \text{Amônia } (NH_3)$$

O crescimento microbiano libera enzimas proteolíticas extracelulares que decompõem as proteínas. Os aminoácidos resultantes são transportados para dentro das células microbianas, onde a amonificação ocorre. O destino da amônia produzida por amonificação depende das condições do solo (veja a discussão sobre desnitrificação a seguir). Como a amônia é um gás, ela desaparece rapidamente do solo seco, mas em solo úmido torna-se solúvel em água, e íons amônio (NH_4^+) são formados:

$$NH_3 + H_2O \longrightarrow NH_4^+ OH \longrightarrow NH_4^+ + OH^-$$

Íons amônio desta sequência de reações são utilizados por bactérias e plantas para a síntese de aminoácidos.

Nitrificação

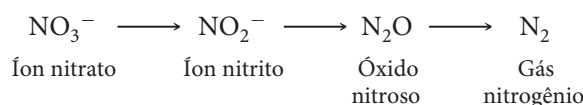
A próxima sequência de reações no ciclo do nitrogênio envolve a oxidação de nitrogênio em íons amônio para produzir nitrato, um processo denominado **nitrificação.** As bactérias que vivem no solo são as bactérias autotróficas nitrificantes, como as dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Esses micro-organismos obtêm energia pela oxidação da amônia ou do nitrito. No primeiro estágio, *Nitrosomonas* oxida amônia em nitrito:

$$\underset{\text{Íon amônio}}{NH_4^+} \xrightarrow{\textit{Nitrosomonas}} \underset{\text{Íon nitrito}}{NO_2^-}$$

No segundo estágio, organismos como *Nitrobacter* oxidam nitritos em nitratos:

$$\underset{\text{Íon nitrito}}{NO_2^-} \xrightarrow{\textit{Nitrobacter}} \underset{\text{Íon nitrato}}{NO_3^-}$$

As plantas tendem a utilizar o nitrato como fonte de nitrogênio para a síntese de proteínas porque o nitrato é altamente móvel no solo e encontra uma raiz de planta mais facilmente do que a amônia. Os íons amônio seriam realmente uma fonte mais eficiente de nitrogênio, uma vez que necessitam de menos energia para serem incorporados às proteínas, porém esses íons carregados positivamente estão normalmente ligados à argila do solo carregada negativamente, enquanto que os íons nitrato, carregados negativamente, não estão ligados.

Desnitrificação

A forma de nitrogênio resultante da nitrificação está completamente oxidada e não contém mais qualquer energia biologicamente utilizável. Entretanto, pode ser utilizada como aceptor de elétrons por micro-organismos que metabolizam outras fontes de energia orgânica na ausência do oxigênio atmosférico (veja a discussão sobre a respiração anaeróbica no Capítulo 5). Esse processo, denominado **desnitrificação**, pode levar à perda de nitrogênio para a atmosfera, especialmente como gás nitrogênio. A desnitrificação pode ser representada da seguinte forma:

$$\underset{\text{Íon nitrato}}{NO_3^-} \longrightarrow \underset{\text{Íon nitrito}}{NO_2^-} \longrightarrow \underset{\text{Óxido nitroso}}{N_2O} \longrightarrow \underset{\text{Gás nitrogênio}}{N_2}$$

A desnitrificação ocorre em solos alagados, onde pouco oxigênio está disponível. Na ausência do oxigênio como aceptor de elétrons, as bactérias desnitrificantes substituem o nitrato dos fertilizantes agrícolas. Elas convertem grande parte do nitrato útil em nitrogênio gasoso, que entra na atmosfera e representa uma perda econômica considerável.

Fixação do nitrogênio

Vivemos no fundo de um oceano de gás nitrogênio. O ar que respiramos contém aproximadamente 79% de nitrogênio, e acima de cada acre de solo (a área de um campo de futebol americano, da linha do gol até a linha de 10 jardas opostas, ou 50,6 x 80 metros) encontra-se uma coluna de nitrogênio pesando em torno de 32.000 toneladas. Porém, as únicas criaturas da Terra que podem usá-lo diretamente como fonte de nitrogênio são algumas espécies de bactérias, incluindo as cianobactérias. O processo pelo qual elas convertem o gás nitrogênio em amônia é conhecido como **fixação do nitrogênio**.

As bactérias que são responsáveis pela fixação do nitrogênio dependem da enzima *nitrogenase*. Estima-se que todo o suprimento da Terra dessa enzima essencial caberia dentro de um único balde grande. Uma característica da nitrogenase é que ela é inativada pelo oxigênio. Portanto, é provável que ela tenha evoluído cedo na história do planeta, antes que a atmosfera contivesse muito oxigênio molecular e depois que os compostos contendo nitrogênio estivessem disponíveis a partir da matéria orgânica decomposta. A fixação do nitrogênio é realizada por dois tipos de micro-organismos: de vida livre e simbióticos. (Os fertilizantes agrícolas são compostos de nitrogênio que são fixados por processos físico-químicos industriais.)

Bactérias de vida livre fixadoras de nitrogênio. As bactérias de vida livre fixadoras de nitrogênio são encontradas particularmente em altas concentrações na *rizosfera,* uma região de aproximadamente 2 mm da raiz da planta. A rizosfera representa algo como um oásis nutricional no solo, principalmente em pastagens. En-

tre as bactérias de vida livre que podem fixar nitrogênio estão as espécies aeróbicas como *Azotobacter*. Esses organismos aeróbicos aparentemente protegem a enzima anaeróbica nitrogenase do oxigênio por, dentre outras coisas, ter uma alta taxa de utilização do oxigênio que minimiza a difusão do mesmo para dentro da célula, onde a enzima está localizada.

Outro aeróbico obrigatório de vida livre que fixa nitrogênio é *Beijerinckia*. Algumas bactérias anaeróbicas, como certas espécies de *Clostridium*, também fixam nitrogênio. A bactéria *C. pasteurianum*, um micro-organismo anaeróbico obrigatório fixador de nitrogênio, é um exemplo proeminente.

Existem muitas espécies de cianobactérias aeróbicas, fotossintetizantes, que fixam nitrogênio. Devido ao fato do seu suprimento de energia ser independente dos carboidratos no solo e na água, elas são fontes particularmente úteis no fornecimento de nitrogênio para o ambiente. As cianobactérias normalmente carregam suas enzimas nitrogenases em estruturas especializadas denominadas **heterocistos**, que fornecem condições anaeróbicas para fixação (veja a Figura 11.13a, página 314).

A maioria das bactérias de vida livre fixadoras de nitrogênio é capaz de fixar grandes quantidades de nitrogênio sob condições de laboratório. Entretanto, no solo, normalmente existe uma escassa quantidade de carboidratos para fornecer a energia necessária para a redução de nitrogênio em amônia, que é então incorporada às proteínas. No entanto, essas bactérias fixadoras de nitrogênio contribuem muito para a economia de nitrogênio em áreas de pastagens, florestas e tundra ártica.

Bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio. As bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio desempenham um papel ainda mais importante no crescimento de plantas para o beneficiamento da colheita. Membros dos gêneros *Rhizobium, Bradyrhizobium* e outros infectam as raízes de plantas leguminosas, como soja, feijão, ervilha, amendoim, alfafa e trevo. (Essas plantas importantes na agricultura são apenas algumas das milhares de espécies de leguminosas conhecidas, muitas das quais são plantas arbustivas ou pequenas árvores encontradas em solos pobres, em várias partes do mundo.) Os rizóbios, como estas bactérias comumente são conhecidas, estão especialmente adaptados às espécies de leguminosas em particular, nas quais formam os **nódulos de raízes** (**Figura 27.5**). O nitrogênio é então fixado por um processo simbiótico da planta e da bactéria. A planta fornece condições anaeróbicas e nutrientes para o crescimento da bactéria, e a bactéria fixa o nitrogênio, que pode ser incorporado às proteínas da planta.

Existem exemplos similares de fixação de nitrogênio simbiótica em plantas não leguminosas, como os amieiros. Essas árvores estão entre as primeiras a aparecerem nas florestas depois de queimadas ou glaciações. O amieiro é simbioticamente infectado por actinomicetos (*Frankia*) e forma nódulos nas raízes fixadoras de nitrogênio. O crescimento de 1 acre de amieiro pode fixar em torno de 50 kg de nitrogênio a cada ano; essas árvores então contribuem para a economia da floresta.

P&R Uma outra contribuição importante para a economia de nitrogênio nas florestas é realizada pelos **liquens**, que são combinações de fungos e algas ou uma cianobactéria, em uma relação mutualística (veja a Figura 12.9, página 340). Quando um simbionte é uma cianobactéria fixadora de nitrogênio, o produto é o nitrogênio fixado que eventualmente enriquece o solo da floresta. As cianobactérias de vida livre podem fixar quantidades significativas de nitrogênio em solos desérticos após as chuvas e na superfície do solo da tundra ártica. As plantações de arroz podem acumular um grande crescimento de organismos fixadores de nitrogênio. As cianobactérias também fazem simbiose com pequenas samambaias flutuantes, *Azolla*, que crescem intensamente em águas de arrozais (**Figura 27.6**). Tanto nitrogênio é fixado por esses micro-organismos que outros fertilizantes à base de nitrogênio frequentemente são desnecessários para o cultivo de arroz.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Qual é o nome mais comum do grupo de micro-organismos que oxidam o nitrogênio em uma forma móvel no solo e que podem ser utilizados para a nutrição de plantas? **27-6**

✓ Bactérias do gênero *Pseudomonas*, na ausência de oxigênio, podem utilizar o nitrogênio oxidado como um aceptor de elétrons, um processo que recebe qual nome no ciclo do nitrogênio? **27-7**

Ciclo do enxofre

O **ciclo do enxofre** (**Figura 27.7**) e o ciclo do nitrogênio são semelhantes por representarem vários estágios de oxidação desses elementos. As formas mais reduzidas do enxofre são os sulfetos, como o gás de odor desagradável sulfeto de hidrogênio (H_2S). Como o íon amônio do ciclo do nitrogênio, esse é um composto reduzido que geralmente se forma sob condições anaeróbicas. Por sua vez, ele representa uma fonte de energia para bactérias autotróficas. Essas bactérias convertem o enxofre reduzido H_2S em grânulos de enxofre elementar e sulfatos completamente oxidados (SO_4^{2-}).

Frequentemente, o enxofre elementar é liberado a partir de micro-organismos decompositores. Ele é essencialmente insolúvel em águas temperadas, e os micro-organismos têm dificuldade em absorvê-lo. Essa provavelmente seja a origem do grande acúmulo subterrâneo pré-histórico de enxofre.

Várias bactérias fototróficas, como as bactérias sulfurosas verdes e púrpuras, também oxidam H_2S, formando grânulos sulfurosos internos coloridos (veja a Figura 11.14, página 315). Como a *Beggiatoa*, elas podem oxidar mais enxofre a íons sulfato. É importante reconhecer que esses organismos estão utilizando a luz como energia; o sulfeto de hidrogênio é usado para reduzir o CO_2 (veja o Capítulo 5, página 140).

O sulfeto de hidrogênio pode ser utilizado como fonte de energia pelo *Thiobacillus* para produzir íons sulfato e ácido sulfúrico. O *Thiobacillus* pode crescer bem em pH baixo, como pH 2, e ser utilizado na mineração (veja a Figura 28.14, página 807). Plantas e bactérias incorporam sulfatos, que tornam-se parte dos aminoácidos que contêm enxofre para seres humanos e outros animais. Nes-

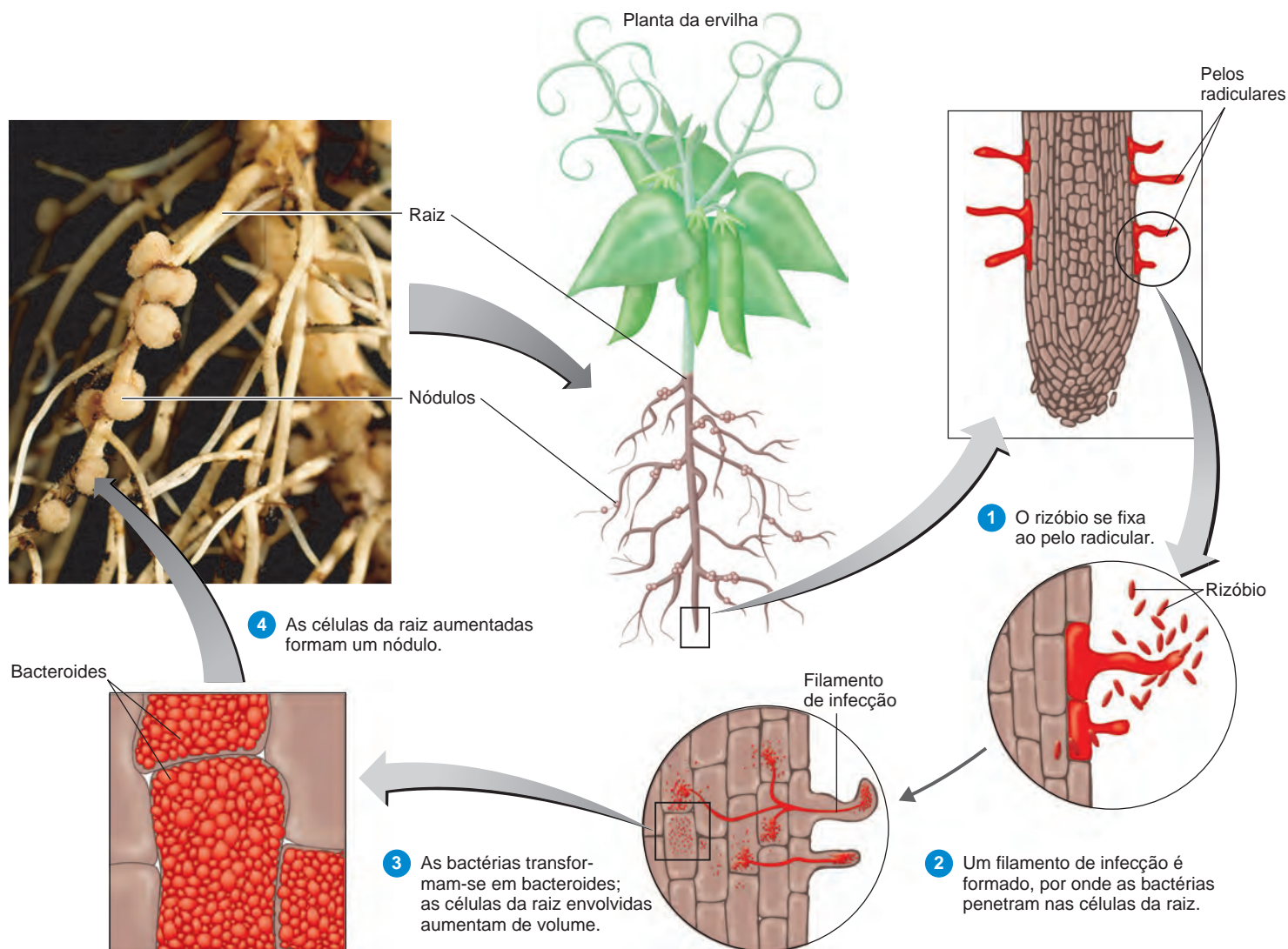



Figura 27.5 **A formação de um nódulo de raiz.** Membros dos gêneros fixadores de nitrogênio *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* formam esses nódulos em leguminosas. Essa associação mutualística é benéfica tanto para a planta quanto para a bactéria.

P **Na natureza é mais provável que as plantas leguminosas sejam mais valiosas em terras agrícolas férteis ou solos desérticos pobres?**

ses organismos, eles formam ligações dissulfeto que constituem a estrutura das proteínas. Como as proteínas são decompostas, em um processo denominado **dissimilação**, o enxofre é liberado como sulfeto de hidrogênio e reintegra o ciclo.

Vida sem a luz solar

Surpreendentemente, é possível que comunidades biológicas completas existam sem fotossíntese aproveitando a energia do H_2S. O Capítulo 11 (página 315) apresenta equações que mostram que a fotossíntese e o uso quimioautotrófico do H_2S são similares em determinados aspectos. Tal comunidade ocorre, por exemplo, em orifícios do fundo do mar. Cavernas profundas, totalmente isoladas da luz solar, foram descobertas e também mantêm comunidades biológicas inteiras. Os **produtores primários** nesses sistemas são bactérias quimioautotróficas em vez de plantas ou micro-organismos fotoautotróficos

Recentemente, outro ecossistema microbiano que existe longe da luz solar foi descoberto a mais de 1 km de profundidade dentro de rochas, incluindo xistos, granitos e basaltos. Essas bactérias são denominadas **endolíticas** (dentro de rochas), que devem crescer na

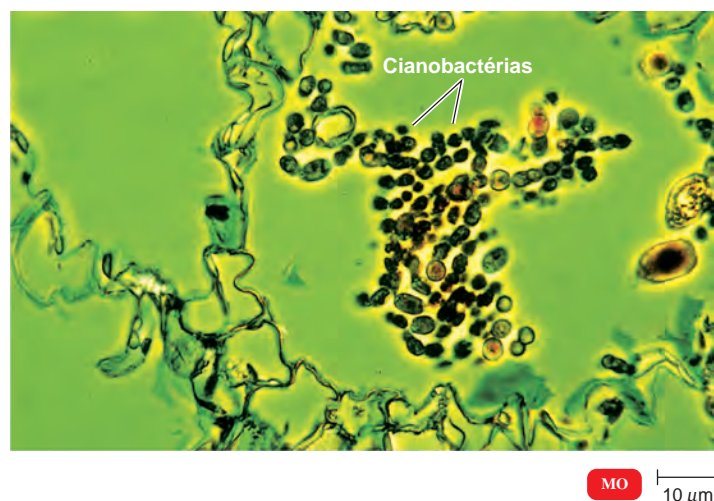



Figura 27.6 A simbiose *Azolla*-cianobactéria. Um corte através da folha de uma samambaia de água doce *Azolla*. A cianobactéria *Anabaena azollae* é visualizada como uma cadeia de células dentro da cavidade da folha.

P Qual é a maior contribuição da cianobactéria como um simbionte?

ausência quase total de oxigênio e com o mínimo de suprimento de nutrientes. Além disso, nessas rochas, reações químicas e radioatividade quebram H_2O, produzindo hidrogênio, que pode ser usado na produção de energia por bactérias autotróficas endolíticas. O dióxido de carbono dissolvido na água serve como fonte de carbono, e a matéria orgânica celular é produzida.

Parte da matéria orgânica é excretada, ou liberada, após a morte e a lise dos micro-organismos e se torna disponível para o crescimento de outros micro-organismos. A entrada de nutrientes, especialmente nitrogênio, é muito reduzida nesse ambiente, e os períodos de geração podem ser medidos em muitos anos. Estratégias de sobrevivência variadas são desenvolvidas para a vida com o mínimo de nutrição. Por exemplo, alguns desses micro-organismos em um estado entre a vida e a morte tornam-se muito menores. Os ecologistas que especulam sobre as formas de vida que podem ser encontradas nos ambientes inóspitos de Marte estão muito interessados nos micro-organismos endolíticos.

Ciclo do fósforo

Outro elemento nutricional importante que faz parte do ciclo biogeoquímico é o fósforo. A disponibilidade do fósforo deve determinar se plantas e outros organismos podem crescer em uma área. Os problemas associados com excesso de fósforo (eutrofização) são descritos adiante neste capítulo.

O fósforo existe inicialmente como íon fosfato (PO_4^{3-}) e sofre pequenas modificações em seu estado de oxidação. O **ciclo do fósforo**, ao contrário, envolve mudanças de formas solúveis para insolúveis e de fosfato orgânico para inorgânico, frequentemente em relação ao pH. Por exemplo, o fosfato nas rochas pode ser solubilizado pelo ácido produzido por bactérias como o *Thiobacillus*. Diferente dos outros ciclos, não existe um produto volátil contendo fósforo para retornar fósforo para a atmosfera, da mesma forma que o dióxido de carbono, o gás nitrogênio e o dióxido de enxofre retornam. Portanto, o fósforo tende a acumular-se nos mares. Ele pode ser recuperado escavando-se o sedimento da superfície de mares antigos, principalmente como depósitos de fosfato de cálcio. As aves marinhas também extraem fósforo do mar alimentando-se de peixes que contêm fósforo e depositando-o como guano (fezes de aves). Algumas pequenas ilhas habitadas por essas aves são exploradas por causa desses depósitos como uma fonte de fósforo para fertilizantes.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Certas bactérias não fotossintéticas acumulam grânulos de enxofre dentro da célula; onde as bactérias usam sulfeto de hidrogênio ou sulfatos como fonte de energia? **27-8**
- ✓ Qual produto químico normalmente serve como fonte de energia para organismos que sobrevivem na escuridão? **27-9**
- ✓ Por que o fósforo tende a acumular-se nos mares? **27-10**

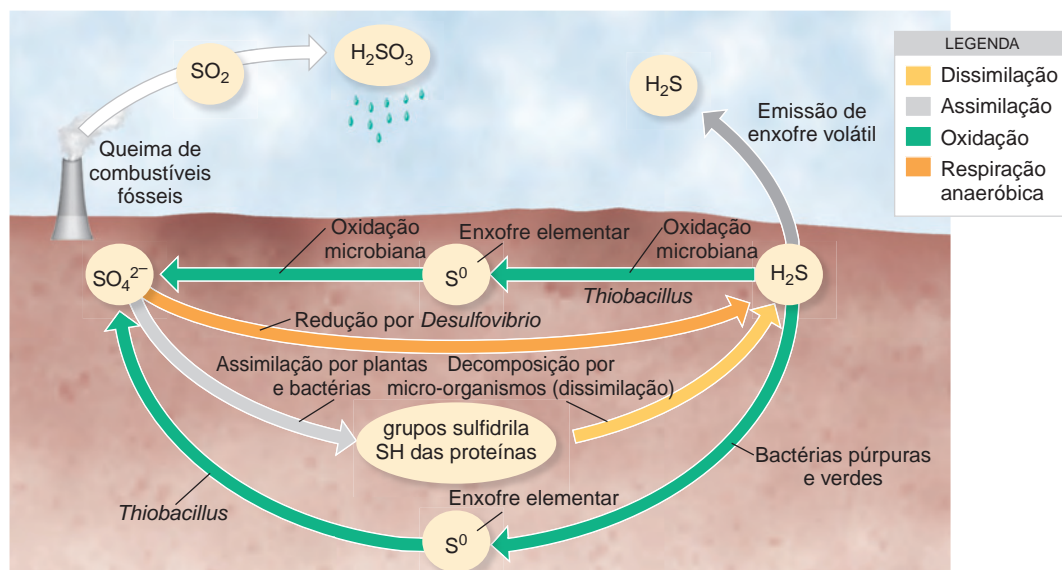
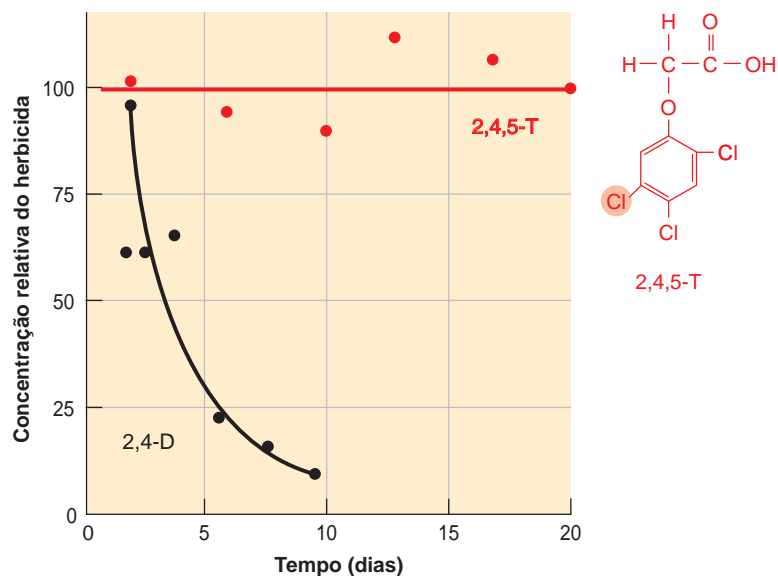
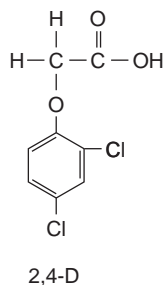



Figura 27.7 O ciclo do enxofre. As formas reduzidas do enxofre como H_2S e enxofre elementar (S^0) são fontes de energia para muitos micro-organismos sob condições aeróbicas e anaeróbicas. Sob condições anaeróbicas, o H_2S pode ser usado como substituto de H_2O na fotossíntese por bactérias púrpuras e verdes (veja a página 777) para produzir S^0. Formas oxidadas do enxofre, como sulfatos (SO_4^{2-}), são utilizadas como aceptores de elétrons, como um substituto para o oxigênio, sob condições anaeróbicas por certas bactérias. Muitos organismos assimilam sulfatos para produzir os grupos SH das proteínas.

P Por que todos os organismos necessitam de uma fonte de enxofre?

Figura 27.8 2,4-D (preto) e 2,4,5-T (vermelho). Este gráfico mostra as estruturas e as taxas de decomposição microbiana dos herbicidas 2,4-D (preto) e 2,4,5-T (vermelho).

P Qual dos dois herbicidas é mais facilmente degradado?

Degradação de produtos químicos sintéticos no solo e na água

Admitimos que os micro-organismos do solo degradam os materiais assim que estes entram no solo. Matéria orgânica natural, como folhas caídas ou resíduos animais, é prontamente degradada. Entretanto, nesta era industrial, muitos produtos químicos que não ocorrem na natureza (**xenobióticos**), como plásticos, entram no solo em grandes quantidades. Na realidade, os plásticos compreendem um quarto de todos os resíduos municipais. Uma proposta para a solução do problema é o desenvolvimento de plásticos biodegradáveis feitos de polilactida (PLA), produzida pelo ácido lático a partir da fermentação. Quando composto (veja a Figura 27.10, página 777), um copo de plástico, por exemplo, feito de PLA degrada-se em poucas semanas. As barreiras são econômicas e não tecnológicas. Muitos produtos químicos sintéticos, como os pesticidas, são altamente resistentes à degradação por ataque microbiano. Um exemplo bem conhecido é o inseticida DDT, que provou ser tão resistente que se acumulou em níveis prejudiciais no ambiente.

Alguns produtos químicos sintéticos são compostos de ligações e subunidades sujeitas ao ataque por enzimas bacterianas. Pequenas diferenças nas estruturas químicas podem fazer grandes diferenças na biodegradabilidade. O exemplo clássico é o dos herbicidas 2,4-D (o composto químico comum utilizado para matar ervas daninhas de gramado) e 2,4,5-T (usado para matar arbustos); ambos eram componentes do Agente Laranja, utilizado para desfolhar selvas durante a Guerra do Vietnã. A adição de um simples átomo de cloro à estrutura do 2,4-D aumenta a vida desse composto no solo de poucos dias a um período indefinido (**Figura 27.8**).

Um problema crescente é a lixiviação em águas subterrâneas de materiais tóxicos que não são biodegradáveis ou que degradam-se muito lentamente. As fontes desses materiais podem incluir aterros, depósitos de lixo industriais ilegais ou pesticidas aplicados em culturas agrícolas.

Biorremediação

O uso de micro-organismos para detoxificar ou degradar poluentes é denominado **biorremediação.** Derramamentos de óleo de navios-tanque naufragados representam um dos mais dramáticos exemplos de poluição química. As perdas econômicas por peixes e praias contaminados podem ser enormes. Até certo ponto, a biorremediação ocorre naturalmente à medida que os micro-organismos atacam o petróleo se as condições forem aeróbicas. Entretanto, os micro-organismos normalmente obtêm seus nutrientes em solução aquosa, e os produtos à base de óleo são relativamente insolúveis. Além disso, hidrocarbonetos de petróleo são deficientes em elementos essenciais, como o nitrogênio e o fósforo. A biorremediação de óleos derramados é bastante melhorada se um "fertilizante" contendo nitrogênio e fósforo for fornecido às bactérias residentes (**Figura 27.9**). A biorremediação também pode fazer uso de micro-organismos selecionados para se desenvolver em certos poluentes ou de certas bactérias modificadas que são especialmente adaptadas para metabolizar os produtos de petróleo. A adição desses micro-organismos especializados é denominada **bioaumento** (veja o quadro no Capítulo 2, página 33).

Resíduos sólidos municipais

Resíduos sólidos municipais (lixo) frequentemente são colocados em grandes aterros compactados de lixo. As condições são altamente anaeróbicas, e mesmo os materiais considerados biodegradáveis, como o papel, não são atacados de maneira eficaz pelos micro-organismos. Na verdade, recuperar um jornal de 20 anos em condições de leitura não é totalmente impossível. Contudo, algumas condições anaeróbicas promovem atividades dos mesmos metanógenos usados na operação de digestores de lodos anaeróbicos para tratar esgotos (veja a página 786). O metano que eles produzem pode ser extraído por buracos perfurados e queimado para gerar eletricidade, ou purificado e introduzido em um sistema de canalização de gás natural (veja a Figura 28.15, página 807).

Figura 27.9 Biorremediação de um derramamento de óleo no Alasca. A porção da praia à esquerda não está limpa a praia à direita foi tratada com aplicações de nutrientes (fertilizantes) livres de carbono. Entretanto, abaixo das camadas superficiais, onde as condições são anaeróbicas, o óleo frequentemente permanece por períodos mais longos.

P **A fórmula química da maioria dos produtos à base de petróleo contém nitrogênio ou fósforo? (*Dica*: Veja o quadro na página 33, Capítulo 2.)**

Esses sistemas são parte de um projeto de muitos aterros grandes nos Estados Unidos, alguns dos quais fornecem energia para usinas e residências. Em uma escala menor, estudos na Índia mostraram que o metano produzido a partir dos resíduos de três vacas é suficiente para fornecer gás de cozinha para uma família.

A quantidade de matéria orgânica dos aterros pode ser consideravelmente reduzida se for primeiramente separada do material que não é biodegradável e compostado. A **compostagem** é um processo utilizado por jardineiros para converter resíduos de plantas em equivalente de húmus natural (**Figura 27.10**). Uma pilha de folhas ou feixes de grama é submetida à degradação microbiana. Sob condições favoráveis, bactérias termofílicas irão aumentar a temperatura do composto para 55 a 60°C em poucos dias. Depois que a temperatura diminuir, a pilha pode ser revirada para renovar o suprimento de oxigênio, e um segundo aumento de temperatura irá ocorrer. Ao longo do tempo, as populações microbianas termofílicas são substituídas pelas populações mesofílicas que continuam lentamente a conversão para o material estável semelhante ao húmus. Quando existe espaço disponível, resíduos municipais são compostados em fileiras (compridas, de pilhas pequenas) que são distribuídas e periodicamente reviradas por equipamentos específicos. A eliminação de resíduos municipais pelos métodos de compostagem tem sido cada vez mais realizada.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Por que os produtos do petróleo são naturalmente resistentes ao metabolismo pela maioria das bactérias? **27-11**

✓ Qual é a definição do termo *biorremediação*? **27-12**

Microbiologia aquática e tratamento de esgoto

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

27-13 Descrever os habitats dos micro-organismos de água doce e marinhos.

27-14 Explicar como a poluição provocada pelas águas residuais é um problema de saúde pública e um problema ecológico.

27-15 Discutir as causas e os efeitos da eutrofização.

27-16 Explicar como a água é testada para a pureza bacteriológica.

27-17 Descrever como os patógenos são removidos da água potável.

27-18 Comparar os tratamentos primário, secundário e terciário de esgoto.

27-19 Listar algumas das atividades bioquímicas em um digestor de lodo anaeróbico.

27-20 Definir *demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sistema de lodo ativado, filtros biológicos, tanque séptico* e *lagoa de oxidação.*

Microbiologia aquática refere-se ao estudo dos micro-organismos e de suas atividades em águas naturais, como lagos, lagoas, córregos, rios, estuários e oceanos. Resíduos líquidos domésticos e industriais entram nos lagos e córregos, e sua degradação e efeitos na vida microbiana são fatores importantes na microbiologia aquática. Também veremos que o método de tratamento de águas residuais dos departamentos municipais mimetiza um processo natural de filtragem.

Micro-organismos aquáticos

Um grande número de micro-organismos em um corpo de água geralmente indica altos níveis de nutrientes na água. Água contaminada pelo influxo de sistemas de esgoto ou de resíduos orgânicos industriais biodegradáveis apresenta contagens bacterianas relativamente altas. De maneira similar, estuários oceânicos (alimentados por rios) têm altos níveis de nutrientes e, portanto, maiores populações microbianas em relação a outras águas costeiras.

Na água, principalmente com baixas concentrações de nutrientes, os micro-organismos tendem a crescer em superfícies paradas e em partículas. Dessa forma, um micro-organismo tem contato com mais nutrientes do que se estivesse aleatoriamente suspenso e flutuando livremente pela corrente. Muitas bactérias cujo principal habitat é a água frequentemente têm apêndices e ganchos que as prendem a superfícies variadas. Um exemplo é o *Caulobacter* (veja a Figura 11.2, página 304).

Microbiota de água doce

Uma lagoa ou lago típico serve como exemplo para representar as várias zonas e os tipos de microbiota encontrados em um corpo de água doce. A **zona litorânea** ao longo da margem tem considerável vegetação enraizada, e a luz penetra através dela. A **zona limnética** consiste na superfície de uma área de água aberta longe da costa. A **zona profunda** é a água mais profunda abaixo da zona limnética. A **zona bêntica** contém o sedimento no fundo.

Populações microbianas de corpos de água doce tendem a ser afetadas principalmente pela disponibilidade de oxigênio e luz. De várias maneiras, a luz é o recurso mais importante devido às al-

(a) Resíduos sólidos municipais sendo revirados por uma máquina especialmente projetada.

(b) Composto produzido a partir de resíduos municipais aguardando os caminhões para espalhá-lo em campos agrícolas.

Figura 27.10 Compostagem de resíduos municipais.

P Uma pilha de compostagem de grama e folhas é muito rica em carbono; ela tem muito nitrogênio?

gas fotossintéticas, que são a principal fonte de matéria orgânica, e consequentemente de energia, para o lago. Esses organismos são os produtores primários do lago que sustentam a população de bactérias, protozoários, peixes e outras vidas aquáticas. As algas fotossintéticas estão localizadas na zona limnética.

Áreas da zona limnética com oxigênio suficiente contêm espécies de pseudomonas e espécies de *Cytophaga, Caulobacter* e *Hyphomicrobium*. O oxigênio não se difunde muito bem na água, como qualquer dono de aquário sabe. Micro-organismos crescendo na água estagnada com nutrientes rapidamente utilizam-se do oxigênio dissolvido nela. Na água sem oxigênio, os peixes morrem e a atividade anaeróbica produz odores. A ação das ondas em camadas superficiais ou o movimento da água nos rios tende a aumentar a quantidade de oxigênio na água e auxilia no crescimento da população de bactérias aeróbicas. Portanto, o movimento melhora a qualidade da água e auxilia na degradação de nutrientes poluidores.

Águas mais profundas das zonas profundas e bênticas possuem baixas concentrações de oxigênio e menos luz. O crescimento de algas próximo à superfície com frequência filtra a luz, e não é raro que os micro-organismos fotossintéticos em zonas mais profundas utilizem diferentes comprimentos de onda de luz daqueles utilizados por fotossintetizadores da superfície (veja a Figura 12.10a, página 341).

As bactérias sulfurosas púrpuras e verdes são encontradas na zona profunda. Essas bactérias são organismos anaeróbicos fotossintéticos que metabolizam H_2S em enxofre e sulfato nos sedimentos do fundo da zona bêntica.

O sedimento na zona bêntica inclui bactérias como o *Desulfovibrio*, que utiliza o sulfato (SO_4^{2-}) como aceptor final de elétrons e o reduz a H_2S. As bactérias produtoras de metano também fazem parte dessas populações bênticas anaeróbicas. Em águas estagnadas, pântanos ou sedimentos de fundo, elas produzem gás metano. Espécies de *Clostridium* são comuns em sedimentos de fundo e podem incluir os organismos causadores do botulismo, particularmente aqueles causadores de surtos de botulismo em aves aquáticas.

Microbiota marinha

À medida que o conhecimento da vida microbiana dos oceanos aumenta, pela ampla identificação com o uso de métodos de RNA ribossomal (veja a discussão sobre FISH na página 292, Capítulo 10), os biólogos estão se tornando mais conscientes da importância dos micro-organismos marinhos. A conclusão até o momento é a de que aproximadamente um terço de toda a vida no planeta consista em micro-organismos que vivem não em águas oceânicas, mas no fundo do mar. Esses micro-organismos produzem grandes quantidades de gás metano, que pode causar danos ambientais se for liberado na atmosfera.

Na parte superior, onde a água do oceano é ensolarada, cianobactérias fotossintéticas do gênero *Synechococcus* e *Prochlorococcus* são abundantes. Populações de diferentes linhagens variam em diferentes profundidades de acordo com suas adaptações à luz solar disponível. Uma gota de água marinha contém 20.000 células de *Prochlorococcus,* uma esfera minúscula com menos de 0,7 μm de diâmetro. Essa população de micro-organismos microscópicos invisíveis preenche os 100 metros superiores do oceano e exerce grande influência na vida na Terra. O suporte para a vida oceânica depende completamente de tais vidas microscópicas fotossintéticas, do **fitoplâncton** marinho (um termo derivado do grego para plantas que são carregadas passivamente pelas correntes).

As bactérias fotossintéticas formam a base da cadeia alimentar oceânica. Bilhões delas em cada litro de água do mar dobram em número em poucos dias e são consumidas na mesma taxa por predadores microscópicos. Elas fixam dióxido de carbono para formar matéria orgânica, que eventualmente é liberada na forma dissolvida e utilizada por bactérias heterotróficas do oceano. Uma cianobactéria, *Trichodesmium*, fixa nitrogênio e auxilia na reposição do nitrogênio que é perdido pelos organismos que vivem no fundo do oceano. Populações imensas de outra bactéria, *Pelagibacter ubique*, metabolizam os produtos residuais dessas populações fotossintéticas (veja a discussão sobre Diversidade Microbiana na página 325). Bactérias de vários tipos tendem a servir

Figura 27.11 Bactéria bioluminescente como órgão de luz em peixes. Este é um peixe-lanterna das profundezas do mar (*Photoblepharon palpebratus*). Os órgãos luminosos sob os olhos podem ser cobertos pelo tecido da pálpebra.

P Que enzima é responsável pela bioluminescência?

como uma fonte particular de alimento para uma série de consumidores que aumenta cada vez mais. Esses consumidores são principalmente protozoários, os quais são alimento para o zooplâncton multicelular (vida animal planctônica, como o camarão *krill*).* Esses zooplânctons eventualmente são fonte de alimento para peixes. A maior parte do dióxido de carbono e dos nutrientes minerais liberados pela atividade metabólica de bactéria, protozoário e zooplâncton é reciclada no fitoplâncton fotossintético.

Em águas abaixo de 100 metros, membros das arquibactérias começam a dominar a vida microbiana. Membros planctônicos deste grupo do gênero *Crenarchaeota* aumentam a biomassa microbiana dos oceanos. Esses organismos são bem adaptados às temperaturas baixas e aos níveis baixos de oxigênio do fundo do oceano. O carbono desses organismos é basicamente derivado do CO_2 dissolvido.

A **bioluminescência** microbiana, ou emissão de luz, é um aspecto interessante da vida no fundo do oceano. Muitas bactérias são luminescentes e algumas estabelecem relações simbióticas com os peixes que habitam a zona bêntica. Esses peixes algumas vezes usam o brilho da sua bactéria residente para auxiliar na atração e na captura da presa na completa escuridão das profundezas do oceano (**Figura 27.11**). Esses organismos bioluminescentes têm uma enzima denominada *luciferase* que capta elétrons das flavoproteínas na cadeia de transporte de elétrons e então emite uma parte da energia dos elétrons como um fóton de luz (veja o quadro na página 780).

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Bactérias sulfurosas púrpuras e verdes são organismos fotossintéticos, mas elas geralmente são encontradas nas profundezas da água doce em vez de na superfície. Por quê? **27-13**

* N. de T. *Krill* é um conjunto de espécies de animais invertebrados semelhantes ao camarão. Esses pequenos crustáceos são organismos importantes do zooplâncton.

Papel dos micro-organismos na qualidade da água

A água na natureza totalmente pura é rara. Até mesmo a água da chuva se contamina à medida que cai na Terra.

Poluição das águas

A forma de poluição da água que é nosso principal interesse é a poluição microbiana, especialmente por organismos patogênicos.

Transmissão de doenças infecciosas. A água que se move abaixo da superfície do solo passa por uma filtração que remove a maioria dos micro-organismos. Por essa razão, a água de fontes e poços profundos geralmente é de boa qualidade. A forma mais perigosa de poluição da água ocorre quando fezes entram no abastecimento de água. Muitas doenças são transmitidas pela via oral-fecal, em que um patógeno é disseminado por fezes humanas ou animais, contamina a água e é ingerido (veja o Capítulo 25). O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estima que, nos Estados Unidos, 900.000 pessoas fiquem doentes a cada ano por doenças transmitidas pela água. No mundo, estima-se que as doenças transmitidas pela água sejam responsáveis por mais de 2 milhões de mortes a cada ano, principalmente entre crianças com menos de cinco anos. Isso equivale a 20 acidentes com aviões jumbo por dia e representa aproximadamente 15% de todas as mortes de crianças nesta faixa etária.

Exemplos de tais doenças são a febre tifoide e a cólera, causadas por bactérias transmitidas somente por fezes humanas. Cerca de 100 anos atrás, o Jornal da Associação Médica Americana (*Journal of the American Medical Association*) publicou que a taxa de mortalidade por febre tifoide em Chicago havia diminuído de 159,7 por 100.000 pessoas em 1891 para 31,4 por 100.000 pessoas em 1894. Esse avanço na saúde pública foi alcançado pela extensão do sistema de encanamento coletor do abastecimento de água no Lago Michigan, para uma distância de aproximadamente 6,4 quilômetros da margem. De acordo com o jornal médico, tal medida diluiu a contaminação de esgoto do abastecimento de água, que não tinha sido tratado até então. O mesmo jornal especulou sobre a necessidade de remover micro-organismos que causavam doenças específicas, sugerindo o uso de leitos de filtros de areia, já amplamente utilizados na Europa naquela época. A filtração em areia é semelhante à purificação natural das fontes de água. A **Figura 27.12** ilustra o efeito da introdução dessa filtração em abastecimentos de água sobre a incidência de febre tifoide na Filadélfia.

Poluição química. A prevenção da contaminação química da água é um grande problema. Os produtos químicos industriais e agrícolas lixiviados da terra entram na água em grandes quantidades e em formas que são resistentes à biodegradação. As águas rurais muitas vezes têm quantidades excessivas de nitrato derivado de fertilizantes agrícolas. Quando ingerido, o nitrato é convertido em nitrito por bactérias no trato gastrintestinal. O nitrito compete por oxigênio no sangue e é muito prejudicial aos lactentes.

Um exemplo importante de poluição industrial de águas envolveu os resíduos líquidos de mercúrio da fabricação do papel. Permitiu-se que o mercúrio metálico fosse derramado em cursos de água como resíduo. Admitiu-se que o mercúrio era inerte e permanecia separado nos sedimentos. Entretanto, as bactérias nos sedimentos convertiam o mercúrio em um composto químico solúvel,

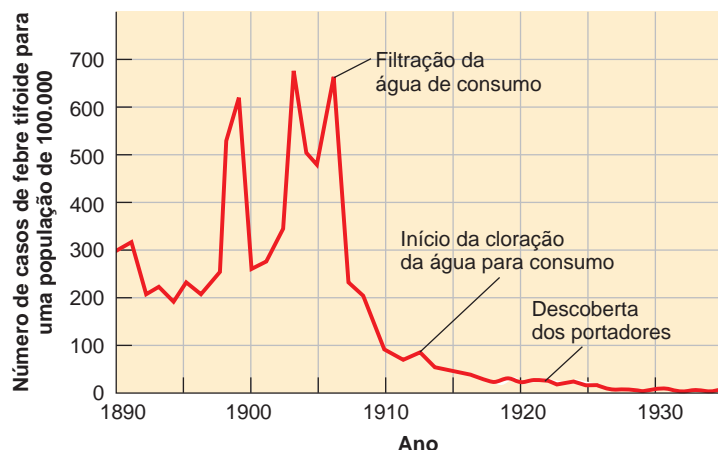



Figura 27.12 Incidência de febre tifoide na Filadélfia, 1890-1935. Este gráfico mostra claramente o efeito dos tratamentos de água sobre a incidência de febre tifoide.

Fonte: E. Steel, *Water Supply and Sewerage*, New York: McGraw-Hill, 1953.

 Por que a incidência de febre tifoide diminuiu?

Figura 27.13 Uma maré vermelha. Estas proliferações excessivas aquáticas são causadas por excesso de nutrientes na água. A cor é da pigmentação dos dinoflagelados.

P Qual é a principal fonte de energia dos dinoflagelados que causa as proliferações aquáticas?

o metil-mercúrio, que era consumido por peixes e invertebrados das águas. Quando peixes e mariscos são parte essencial da dieta humana, concentrações de mercúrio podem acumular-se com efeitos prejudiciais para o sistema nervoso. A Food and Drug Administration (FDA) aconselha que mulheres grávidas e lactantes não comam certos tipos de peixes, incluindo peixe-espada e tubarão, que são suscetíveis à contaminação com altos níveis de mercúrio. Esforços de biorremediação utilizando bactérias para detoxificar o mercúrio em um refúgio de vida selvagem são discutidos no quadro do Capítulo 2 (página 33).

Outro exemplo de poluição química são os detergentes sintéticos desenvolvidos logo após a Segunda Guerra Mundial. Eles rapidamente substituíram muitos dos sabões até então em uso. Como muitos desses detergentes não eram biodegradáveis, eles rapidamente se acumularam nos cursos de água. Em alguns rios, grandes porções de espuma podiam ser vistas flutuando corrente abaixo. Esses detergentes foram substituídos por formulações sintéticas biodegradáveis.

Entretanto, os detergentes biodegradáveis ainda representam um grande problema ambiental, pois muitas vezes contêm fosfatos. Infelizmente, os fosfatos quase não são alterados quando passam pelo sistema de tratamento de esgotos e podem levar à **eutrofização**, que é causada pelo excesso de nutrientes nos lagos e córregos.

Para compreender o conceito de eutrofização, recorde que as algas e as cianobactérias obtêm sua energia da luz solar e seu carbono do dióxido de carbono dissolvido na água. Na maioria das águas, somente os suprimentos de nitrogênio e fósforo, entretanto, permanecem inadequados para o crescimento de algas. Esses dois nutrientes podem ser introduzidos na água por meio de resíduos domésticos, agrícolas e industriais, quando o tratamento de resíduos é ausente ou ineficiente. Esses nutrientes adicionais causam um crescimento aquático denso denominado **crescimento excessivo de algas** (*algal blooms*). Como muitas cianobactérias podem fixar o nitrogênio da atmosfera, esses organismos fotossintetizantes necessitam somente de traços de fósforo para iniciar essa proliferação. Uma vez que a eutrofização resulta no crescimento exagerado de algas ou cianobactérias, o efeito é o mesmo que a adição de matéria orgânica biodegradável. Em um curto prazo, essas algas e cianobactérias produzem oxigênio. Entretanto, elas eventualmente morrem e são degradadas por bactérias. Durante o processo de degradação, o oxigênio na água é esgotado, matando os peixes. Restos de matéria orgânica não degradada são depositados no fundo do lago e aceleram seu abastecimento.

As marés vermelhas do fitoplâncton produtoras de toxinas (**Figura 27.13**), mencionadas no Capítulo 12, são provavelmente causadas por nutrientes excessivos de correntes marítimas ou resíduos terrestres. Além dos efeitos da eutrofização, esse tipo de proliferação biológica pode afetar a saúde humana. Frutos do mar, especialmente mariscos ou moluscos semelhantes, que ingerem estes plânctons, tornam-se tóxicos aos seres humanos.

Resíduos municipais contendo detergentes são provavelmente a principal fonte de fosfatos de lagos e córregos. Como resultado, detergentes e fertilizantes para gramados que contenham fosfato são proibidos em muitos locais.

Resíduos da mineração de carvão, principalmente no leste dos Estados Unidos, possuem um alto conteúdo de enxofre, principalmente pirita (FeS_2). No processo de obtenção de energia a partir da oxidação de íon ferroso (Fe^{2+}), bactérias como *Thiobacillus ferrooxidans* convertem o FeS_2 em sulfato. O sulfato entra nos córregos como ácido sulfúrico, que diminui o pH da água e prejudica a vida aquática. O pH baixo também promove a formação de hidróxido de ferro insolúvel, que forma um precipitado amarelo, muitas vezes visto turvando as águas poluídas.

Testes de pureza das águas

Historicamente, a maior preocupação sobre a pureza das águas tem sido relacionada com a transmissão de doenças. Portanto, testes foram desenvolvidos para determinar a segurança das águas, muitos deles também sendo aplicáveis em alimentos.

Biossensores: bactérias que detectam poluentes e patógenos

A cada ano nos Estados Unidos, usinas geram 265 milhões de toneladas métricas de resíduos perigosos, 80% dos quais acabam em aterros. Enterrar essas substâncias químicas não as remove do ecossistema. Isso apenas as move para outros lugares, onde ainda podem ser encontradas em corpos de água. As análises químicas tradicionais para localizar as substâncias químicas apresentam um alto custo e não podem diferenciar aquelas que afetam os sistemas biológicos daquelas que são inertes ao ambiente.

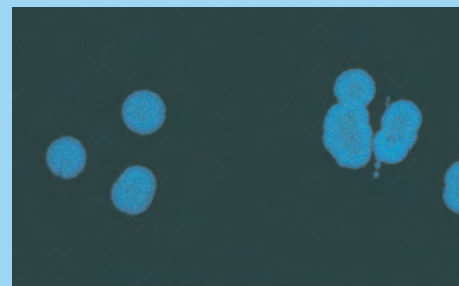
Em resposta a esse problema, cientistas estão desenvolvendo biossensores, bactérias que podem localizar biologicamente poluentes ativos. Os biossensores não requerem substâncias químicas ou equipamentos de alto custo e trabalham rapidamente – em poucos minutos.

Para funcionar, os biossensores bacterianos requerem um receptor, que é ativado na presença de poluentes, e um marcador, que fará com que tal mudança seja aparente. Biossensores utilizam o operon *lux* de *Vibrio* ou *Photobacterium* como marcador. Este operon contém genes indutores e estruturais para a enzima luciferase. Na presença da coenzima $FMNH_2$, a luciferase reage com a molécula de modo que o complexo enzima-substrato emite uma luz azul-esverdeada, o que então oxida o $FMNH_2$ para produzir FMN. Portanto, uma bactéria contendo o operon *lux* irá emitir uma luz visível quando o receptor for ativado (veja as fotografias).

O operon *lux* é facilmente transferido para muitas bactérias. Cientistas em diversos países estão investigando o uso da *E. coli* contendo o operon *lux* para detectar produtos químicos perigosos no solo e na água. Amostras de solo e água são colocadas em um tubo contendo a bactéria *E. coli* geneticamente modificada. A bactéria emitirá luz desde que esteja saudável, mas continuará emitindo luz mesmo tendo sido morta por poluentes tóxicos.

Em outras aplicações, a bactéria *Lactococcus* que possui o operon *lux* está sendo usada para detectar a presença de antibióticos no leite utilizado para a produção de queijo. Como a emissão de luz requer que a célula esteja viva, a presença de antibiótico é medida como uma diminuição na saída de luz pelo recombinante das bactérias *Lactococcus.*

Outros biossensores utilizam micro-organismos recombinantes transportando um gene de água-viva para a proteína fluorescente verde (*GFP*, de *green fluorescent protein*) e genes que são induzidos por poluentes ou antibióticos. Por exemplo, leveduras contendo genes que codificam receptores de odores em mamíferos e GFP irão fluorescer na presença de TNT. Depois que os poluentes são detectados, os processos de biorremediação são ainda necessários para removê-los.

(a)

(b)

Vibrio fischeri emite luz quando a energia é liberada pelo transporte de elétrons para a luciferase. Aqui são mostradas colônias de *V. fischeri* fotografadas **(a)** à luz do dia e **(b)** no escuro, iluminadas por sua própria luz.

Entretanto, não é prático procurar somente patógenos nos abastecimentos de água. Por um lado, se fossem encontrados os patógenos causadores de febre tifoide ou cólera no sistema de água, a descoberta já não poderia prevenir um surto da doença. Além disso, esses patógenos provavelmente estariam presentes somente em pequeno número e poderiam não estar incluídos nas amostras testadas.

Os testes para pureza da água utilizados atualmente visam detectar **organismos indicadores** específicos. Existem vários critérios para um organismo indicador. O mais importante deles é que o or-

ganismo esteja efetivamente presente em fezes humanas em números substanciais, de modo que sua detecção seja uma boa indicação de que resíduos humanos estão sendo introduzidos na água. Os organismos indicadores a princípio também podem sobreviver na água tão bem quanto os patógenos. Esses organismos devem ser detectados por testes simples, que podem ser realizados por pessoas com pouco treinamento em microbiologia.

Nos Estados Unidos, os organismos indicadores habituais em água doce são as *bactérias coliformes*.* **Coliformes** são definidos como bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, gram-negativas, não formadoras de endosporos, do tipo bastonete, que fermentam lactose para formar gás 48 horas após terem sido colocadas em caldo lactosado a 35ºC. Como alguns coliformes não são unicamente bactérias entéricas, mas são mais comumente encontrados em plantas e amostras de solo, muitos padrões para alimentos e água especificam a identificação de *coliformes fecais*. O coliforme fecal predominante é a *E. coli*, que constitui uma grande proporção da população bacteriana intestinal humana. Existem testes específicos para diferenciar coliformes fecais e coliformes não fecais. Note que os coliformes não são patogênicos por si mesmos sob condições normais, embora algumas linhagens possam causar diarreia (veja o Capítulo 25, página 717) e infecções oportunistas do trato urinário (veja o Capítulo 26, página 746).

Os métodos para determinação da presença de coliformes na água têm como base a habilidade das bactérias coliformes em fermentar lactose. O método dos tubos múltiplos pode ser utilizado para estimar o número de coliformes pelo método do número mais provável (MNP) (veja a Figura 6.19, página 177). O método de filtração em membrana é um método mais direto na determinação da presença e dos números de coliformes. Talvez seja o método mais amplamente usado na América do Norte e na Europa. Ele faz uso de um aparelho de filtração semelhante ao mostrado na Figura 7.4 (página 191). Nessa aplicação, porém, as bactérias coletadas na superfície de uma membrana filtrante removível são colocadas em um meio adequado e incubadas. As colônias de coliformes têm uma aparência distinta e são contadas. Esse método é adequado para águas com baixa turbidez, que não entopem o filtro e que têm relativamente poucas bactérias não coliformes que poderiam mascarar os resultados.

Um método mais novo e mais conveniente na detecção de coliformes, especificamente o coliforme fecal *E. coli*, faz uso de um meio contendo dois substratos, *o*-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (ONPG) e 4-metilumbeliferil-β-D-glucuronídeo (MUG). Os coliformes produzem a enzima β-galactosidase, a qual atua sobre o ONPG e forma uma cor amarela, indicando a sua presença na amostra. *E. coli* é a única entre os coliformes que quase sempre produz a enzima β-glicoronidase, a qual atua sobre o MUG para formar um composto fluorescente que possui um brilho azul quando iluminado por uma luz ultravioleta (UV) de comprimento de onda longo (**Figura 27.14**). Esses testes simples, ou variações, podem detectar a presença ou a ausência de coliformes ou *E. coli* e podem ser combinados com o método dos tubos múltiplos para enumerá-los. Eles também podem ser aplicados em meios sólidos, como no método de filtração em membrana. As colônias fluorescem sob luz UV.

Figura 27.14 O teste ONPG e MUG para coliformes. A cor amarela (ONPG-positivo) indica a presença de coliformes. A fluorescência azul (MUG--positivo) indica a presença do coliforme fecal *E. coli*. O meio sem coloração indica uma amostra não contaminada.

P O que causa a formação de um composto fluorescente no teste positivo para MUG?

Os coliformes são organismos indicadores muito úteis na sanitização da água, porém têm limitações. Um dos problemas é o crescimento da bactéria coliforme incorporada em biofilmes nas superfícies internas das tubulações de água. Esses coliformes não representam contaminação externa fecal da água e não são considerados uma ameaça para a saúde pública. Normas que regem a presença de coliformes em águas para consumo requerem que qualquer amostra positiva seja relatada, e ocasionalmente esses coliformes nativos são detectados. Isso levou a orientações comunitárias desnecessárias para ferver a água.

Um problema mais sério é que alguns patógenos, especialmente vírus, cistos e oocistos de protozoários, são mais resistentes à desinfecção química do que os coliformes. Pelo uso de métodos sofisticados para a detecção de vírus, verificou-se que amostras de água quimicamente desinfectadas, livres de coliformes, muitas vezes estão contaminadas com vírus entéricos. Os cistos de *Giardia lamblia* e os oocistos de *Cryptosporidium* são tão resistentes à cloração que a eliminação completa deles por esse método é praticamente impossível; métodos mecânicos como a filtração são necessários. Uma regra geral para a cloração é que os vírus são mais resistentes ao tratamento do que a *E. coli*, e os cistos de *Cryptosporidium* e *Giardia* são 100 vezes mais resistentes que os vírus.

* A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. Environmental Protection Agency – EPA) recomenda a utilização da bactéria *Enterococcus* como um indicador seguro para águas oceânicas e baías. Populações de enterococos diminuem mais uniformemente do que coliformes tanto em água doce quanto em água do mar.

Figura 27.15 As etapas envolvidas no tratamento de água em uma estação municipal típica de purificação de água.

P A remoção de "partículas coloidais" por floculação envolve organismos vivos?

TESTE SEU CONHECIMENTO

- Qual doença é mais comum de ser transmitida por águas poluídas, cólera ou influenza? **27-14**
- Cite um micro-organismo que irá crescer na água, mesmo se não houver uma fonte de matéria orgânica para energia ou uma fonte de nitrogênio – mas que requer pequenas quantidades de fósforo. **27-15**
- Coliformes são os mais comuns indicadores bacterianos de poluição da água que ameaçam a saúde nos Estados Unidos. Por que normalmente é necessário especificar o termo *coliforme fecal*? **27-16**

Tratamento de água

Quando a água é obtida de reservatórios não contaminados alimentados por córregos de montanhas limpas ou por poços profundos, ela requer um mínimo de tratamento para ser segura para o consumo. Muitas cidades, contudo, obtêm suas águas de fontes bastante poluídas, como os rios que recebem os resíduos municipais e industriais. As etapas utilizadas para purificar essas águas são mostradas na **Figura 27.15.** O tratamento da água não está destinado a produzir água estéril, mas uma água livre de micro-organismos causadores de doenças.

Coagulação e filtração

Águas muito turvas (opacas) permanecem em um reservatório por um tempo, para permitir que a matéria particulada suspensa seja decantada. A água passa então pelo processo de **floculação**, com remoção de matéria orgânica coloidal como a argila, que é muito pequena (menor que 10 µm) e que de outra forma permaneceria em suspensão por tempo indeterminado. Um floculante químico, como o sulfato de potássio e o alumínio (alúmen), forma agregados de partículas finas suspensas chamadas de *flocos*. À medida que esses agregados vão lentamente se depositando, eles capturam o material coloidal e o carregam até o fundo. Um grande número de vírus e bactérias também é removido dessa forma. O alúmen foi usado para limpar a água de rios lamacentos durante a primeira metade do século XIX nas fortalezas militares do oeste americano, muito antes que a teoria de doenças produzidas por germes fosse desenvolvida.

Depois da floculação, a água é tratada por **filtração** – isto é, passa através de leitos de 33 a 132 cm de areia fina ou carvão de antracito triturado. Como mencionado anteriormente, alguns cistos e oocistos de protozoários são removidos da água apenas por esse tratamento de filtração. Os micro-organismos são capturados principalmente por adsorção a superfícies de partículas de areia. Eles não penetram as rotas tortuosas entre as partículas, embora os espaços sejam maiores que os micro-organismos sendo filtrados. Esses filtros são periodicamente lavados para evitar acúmulos. Os sistemas de águas municipais têm uma grande preocupação com os suplementos químicos tóxicos de filtração de areia com filtros de carvão ativado (carbono). O carvão remove não somente matéria particulada, mas também a maioria dos poluentes químicos orgânicos dissolvidos. Uma estação de tratamento de água operando corretamente remove vírus (que são mais difíceis de remover do que bactérias e protozoários) com uma eficiência de cerca de 99,5%. Os *sistemas de filtração em membrana* em baixa pressão estão começando a ser utilizados. Esses sistemas possuem aberturas tão pequenas quanto 0,2 µm e são mais confiáveis para remover *Giardia* e *Cryptosporidium*.

Desinfecção

Antes de entrar no sistema de distribuição municipal, a água filtrada é clorada. Como a matéria orgânica neutraliza o cloro, os operadores da estação de tratamento devem prestar atenção constante para manter os níveis de cloro efetivos. Há certa preocupação de que o cloro em si possa ser prejudicial para a saúde, pois pode reagir com contaminantes orgânicos da água para formar compostos carcinogênicos. Atualmente, essa possibilidade é considerada um risco aceitável quando comparada à utilidade comprovada da cloração da água.

Como observado no Capítulo 7 (página 202), outro desinfetante para a água é o tratamento com ozônio. O ozônio (O_3) é uma forma altamente reativa do oxigênio que é formada por descarga elétrica e luz UV. (O odor fresco no ar depois de uma tempestade ou em uma lâmpada de luz ultravioleta é de ozônio.) Para o tratamento da água, o ozônio é produzido eletricamente no local do tratamento (Figura 27.16). O tratamento com ozônio também é válido por não deixar gosto nem odor. Uma vez que apresenta pouco efeito residual, o ozônio geralmente é utilizado como desinfetante no tratamento primário, seguido pela cloração. O uso da luz UV também é um suplemento ou uma alternativa para a desinfecção química. Lâmpadas de tubo UV são dispostas de modo que a água flua próximo a elas. Isso é necessário por causa do baixo poder de penetração da radiação UV.

Figura 27.16 Geração de ozônio. As estações de tratamento de água produzem ozônio passando ar seco entre eletrodos de alta voltagem em tanques chamados de ozonizadores, como os dois mostrados aqui.

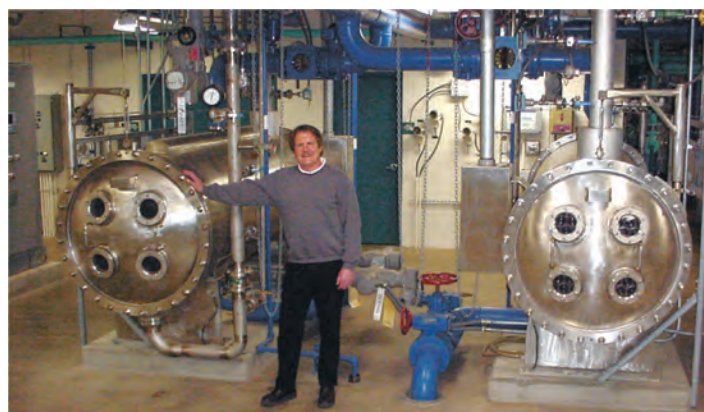
P Qual é a maior desvantagem da ozonização da água?

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ De que modo floculantes como o alumínio removem impurezas coloidais, incluindo micro-organismos, da água? **27-17**

Tratamento de esgoto (águas residuais)

O esgoto, ou águas residuais, inclui toda a água de uso doméstico que é utilizada para lavagem e aquela de resíduos sanitários. A água da chuva que flui para os bueiros da rua e alguns resíduos industriais fazem parte do sistema de esgoto de muitas cidades. O esgoto é composto principalmente de água e contém pouca matéria particulada, talvez somente 0,03%. Mesmo assim, nas grandes cidades, a porção sólida do esgoto pode totalizar mais de 1.000 toneladas de material sólido por dia.

Até que a consciência ambiental se intensificasse, um número surpreendente de cidades norte-americanas tinha somente um sistema rudimentar de tratamento de esgoto ou não tinha qualquer sistema. O esgoto bruto, não tratado, era simplesmente descartado em rios ou oceanos. Uma corrente, com fluxo bastante aerado, é capaz de uma autopurificação considerável. Até que as populações em expansão e seus resíduos excedam essa capacidade, esse tratamento casual de resíduos municipais não é um problema. Nos Estados Unidos, a maioria dos casos de simples descarte foi melhorada, porém isso não ocorre na maior parte do mundo. Muitas comunidades que vivem às margens do Mediterrâneo depositam seus esgotos não tratados no mar. Em um resort turístico asiático, um hotel deu instruções para que não fosse dada descarga com papel higiênico no vaso sanitário – provavelmente porque o papel descartado flutuando deixaria claro que as saídas dos esgotos estavam perto da praia. Nas regiões da Europa e na África do Sul onde turistas são essenciais para a economia, a administração local tranquiliza os visitantes sobre a qualidade da água com a campanha da Bandeira Azul. A presença da bandeira (Figura 27.17) mostra que a água costeira encontra determinados padrões mínimos de sanitização.

Tratamento primário do esgoto

A primeira etapa no tratamento de esgoto denomina-se **tratamento primário do esgoto** (Figura 27.18a). Nesse processo, grandes materiais flutuantes em águas residuais recebidas são filtrados, o esgoto flui através das câmaras de sedimentação para remover areia e materiais arenosos similares, escumadeiras removem óleo e graxas flutuantes, e os restos flutuantes são fragmentados e triturados. Depois dessa etapa, o esgoto passa através de tanques de sedimentação, onde a matéria sólida restante é sedimentada. Os sólidos do esgoto sedimentados no fundo são chamados de **lodo** – neste estágio, *lodo primário*. Aproximadamente 40 a 60% dos sólidos suspensos são removidos do esgoto por esse tratamento de sedimentação, e a floculação química, que aumenta a remoção de sólidos, algumas vezes é adicionada a essa etapa. A atividade biológica não é particularmente importante no tratamento primário, embora possa ocorrer digestão do lodo e da matéria orgânica dissolvida durante longos períodos de espera. O lodo é removido para uma base contínua ou intermitente, e o efluente (o líquido que sai) passa em seguida para o tratamento secundário.

Demanda bioquímica de oxigênio

Um conceito importante no tratamento de esgoto e na ecologia geral do gerenciamento de resíduos, a **demanda bioquímica de oxigênio (DBO)** é uma medida da matéria orgânica degradada biologicamente na água. O tratamento primário remove de 25 a 35% da DBO do esgoto.

A DBO é determinada pela quantidade de oxigênio necessária para a bactéria metabolizar a matéria orgânica. Na metodologia clássica, para determiná-la, são utilizadas garrafas com rolhas herméticas. Cada garrafa é primeiramente preenchida com a água a ser testada ou diluições. Inicialmente, a água é aerada para

Figura 27.17 Uma praia exibindo uma bandeira azul.

P Qual tipo de população bacteriana precisaria ser quantificado para estabelecer normas para as águas de praia de uma região?

fornecer uma quantidade relativamente alta de oxigênio dissolvido e, se necessário, semeada com bactérias. As garrafas cheias são incubadas por cinco dias no escuro a 20ºC, e a diminuição do oxigênio dissolvido é determinada por um teste químico ou eletrônico. Quanto mais oxigênio é consumido pela bactéria para degradar a matéria orgânica na amostra, maior a DBO, a qual normalmente é expressa em miligramas de oxigênio por litro de água. A quantidade de oxigênio que normalmente pode ser dissolvida na água é de cerca de 10 mg/L; os valores de DBO típicos de águas residuais podem ser vinte vezes maiores que este valor. Se esta água residual for introduzida em um lago, por exemplo, a bactéria do lago começará a consumir a matéria orgânica responsável pela alta DBO, esgotando rapidamente o oxigênio da água do lago. (Veja a discussão anterior de eutrofização neste capítulo, página 779.)

Tratamento secundário do esgoto

Após o tratamento primário, a maior parte da DBO remanescente no esgoto está na forma de matéria orgânica dissolvida. O **tratamento secundário do esgoto**, predominantemente biológico, é projetado para remover a maior parte da matéria orgânica e reduzir a DBO (**Figura 27.18b**). Nesse processo, o esgoto passa por uma forte aeração para aumentar o crescimento de bactérias aeróbicas e outros micro-organismos que oxidam a matéria orgânica dissolvida a dióxido de carbono e água. Dois métodos comumente utilizados no tratamento secundário são o sistema de lodo ativado e os filtros biológicos.

Nos tanques de aeração de um **sistema de lodo ativado**, ar ou oxigênio puro passa através do efluente proveniente do tratamento primário (**Figura 27.19**). O nome é derivado da prática de se adicionar um pouco do lodo de um lote anterior ao esgoto que está entrando. Esse inóculo é denominado *lodo ativado*, pois contém grande número de micro-organismos que metabolizam o esgoto. A atividade desses micro-organismos aeróbicos oxida grande parte da matéria orgânica do esgoto em dióxido de carbono e água. Membros especialmente importantes da comunidade microbiana são as espécies de bactérias *Zoogloea*, as quais formam massas contendo bactérias nos tanques de aeração chamadas de flocos, ou *grânulos de lodo* (**Figura 27.20**). (Veja a discussão anterior sobre flocos neste capítulo.) A matéria orgânica solúvel no esgoto é incorporada ao floco e a seus micro-organismos. A aeração é interrompida após 4 a 8 horas, e os conteúdos do tanque são transferidos para um tanque de decantação, onde os flocos sedimentam, removendo grande parte da matéria orgânica. Esses sólidos são subsequentemente tratados em um digestor de lodo anaeróbico, que será descrito em breve. Provavelmente mais matéria orgânica é removida por esse processo de sedimentação do que pela oxidação aeróbica relativamente curta realizada por micro-organismos. O efluente clarificado é desinfectado e descarregado.

Ocasionalmente, o lodo pode flutuar em vez de sedimentar; esse fenômeno é denominado **intumescimento**. Quando isso ocorre, a matéria orgânica nos flocos flui com o efluente descartado, resultando em poluição local. O intumescimento é causado pelo crescimento de bactérias filamentosas de vários tipos; *Sphaerotilus natans* e espécies de *Nocardia* frequentemente infringem o processo. Os sistemas de lodo ativado são bastante eficientes, removendo 75 a 95% da DBO do esgoto.

Os **filtros biológicos** são outro método comumente usado no tratamento secundário. Nesse método, o esgoto é espalhado sobre um leito de pedras ou plásticos moldados (**Figura 27.21a**). Os componentes desse leito devem ser grandes o bastante para que o ar penetre até o fundo, mas pequenos o suficiente para maximizar a área de superfície disponível para a atividade microbiana. Um biofilme (veja a página 162) de micro-organismos aeróbicos cresce nas pedras ou nas superfícies plásticas (**Figura 27.21b**). Devido à circulação de ar através do leito de pedras, esses micro-organismos aeróbicos na camada limosa podem oxidar uma grande quantidade de matéria orgânica, escoando sobre as superfícies, em dióxido de carbono e água. Os filtros biológicos removem 80 a 85% da DBO, sendo assim menos eficientes do que os sistemas de lodo ativado. Entretanto, eles normalmente são menos problemáticos para operar e apresentam menos problemas de sobrecarga ou esgoto tóxico. Observe que o esgoto também é um produto do sistema de filtros biológicos.

Outro projeto baseado em biofilmes para o tratamento secundário do esgoto é o sistema **contactor biológico rotativo**. Esse sistema consiste em uma série de discos com vários centímetros de diâmetro, montados sobre um eixo. Os discos giram lentamente, com seus 40% inferiores submersos no resíduo líquido. A rotação fornece aeração e contato entre o biofilme dos discos e os resíduos líquidos. A rotação também tende a causar o desprendimento do biofilme acumulado, quando este se torna muito espesso. Isso equivale ao acúmulo de flocos nos sistemas de lodo ativado.

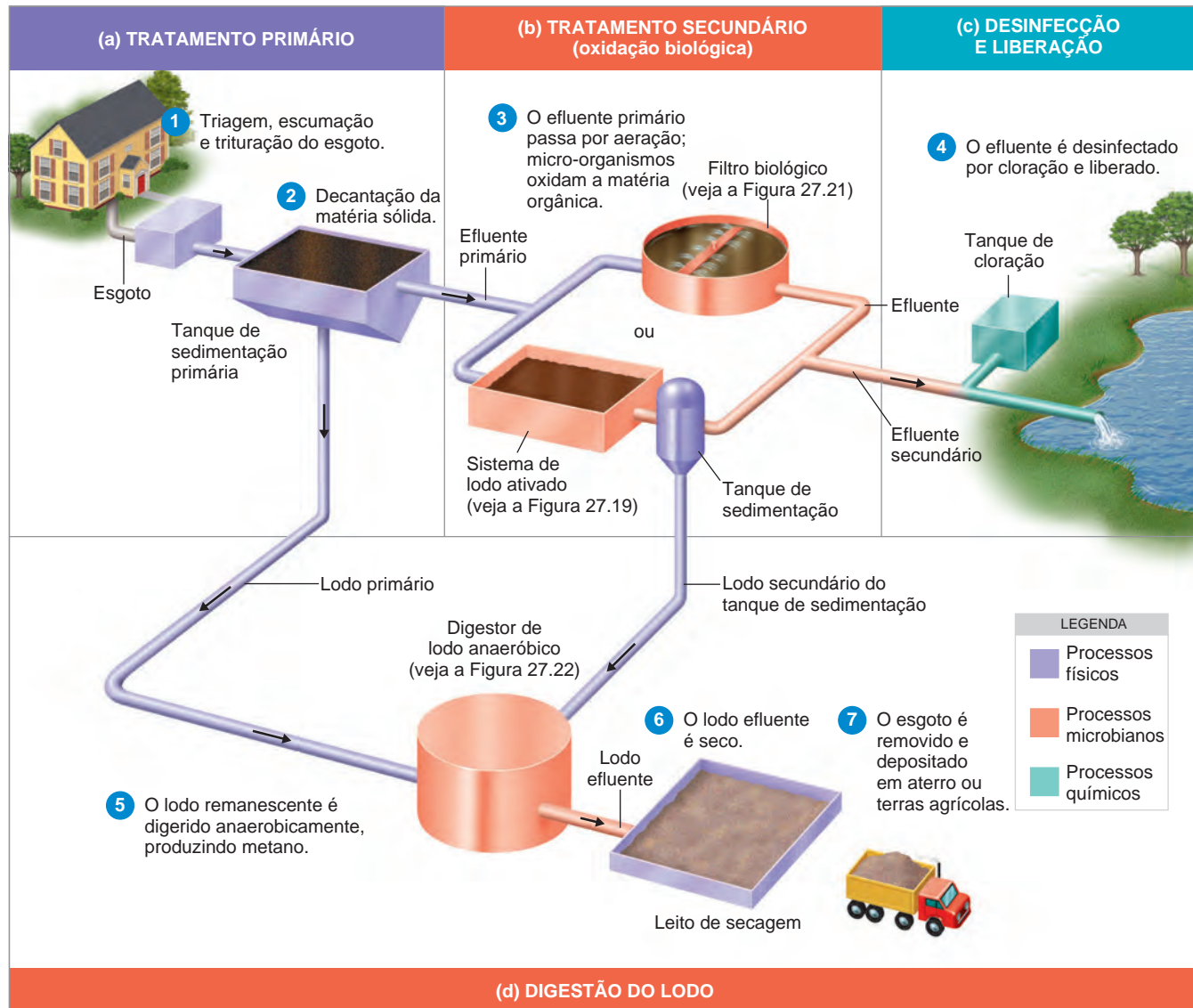



Figura 27.18 Os estágios de um tratamento de esgoto típico. A atividade microbiana ocorre aerobicamente em filtros biológicos ou em tanques de aeração de lodo ativado e anaerobicamente no digestor de lodo anaeróbico. Um sistema particular usaria tanques de aeração de lodo ativado ou filtros biológicos, não ambos, como mostrado nesta figura. O metano produzido pela digestão do lodo é queimado ou utilizado em aquecedores de energia ou motores de bombas.

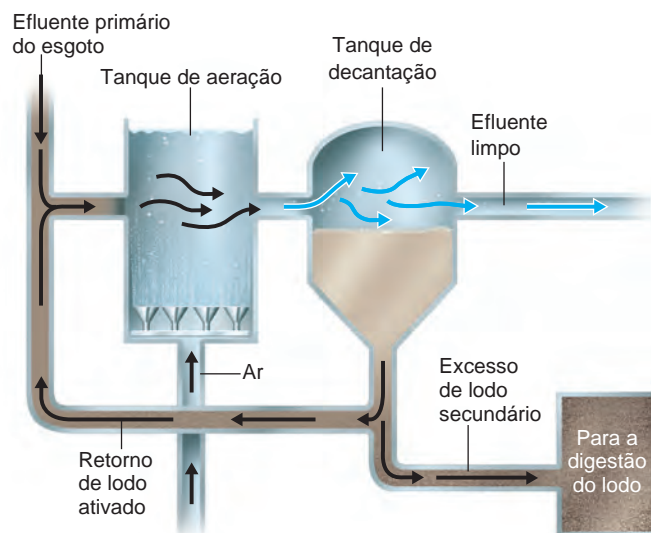
P Qual processo requer oxigênio?

Desinfecção e liberação

O esgoto tratado é desinfectado, geralmente por cloração, antes de ser liberado (**Figura 27.18c**). O descarte em geral é feito no oceano ou em córregos, embora os campos de irrigação por aspersão muitas vezes sejam utilizados para evitar a contaminação dos cursos de água por fósforo e metal pesado.

O esgoto pode ser tratado até um nível de purificação que permite seu uso como água para consumo. Essa prática é utilizada atualmente em algumas cidades em regiões semiáridas dos Estados Unidos e provavelmente será expandida. Em um sistema típico, o esgoto tratado é filtrado para remoção das partículas suspensas microscópicas, passando então através do sistema de purificação por osmose reversa para remoção dos micro-organismos. Quaisquer micro-organismos remanescentes são mortos pela exposição à luz UV ou outros desinfetantes.

Digestão do lodo

O lodo primário acumula-se nos tanques de sedimentação primária; acumula-se também nos tratamentos secundários de lodo ativado e filtros biológicos. Para um tratamento posterior, esses lodos frequentemente são bombeados para **digestores de lodo anaeróbicos** (**Figuras 27.18d** e **27.22**). O processo de digestão do lodo é realizado em grandes tanques dos quais o oxigênio é quase completamente excluído.

(a) Diagrama de um sistema de lodo ativado.

(b) Um tanque de aeração, mostrando a superfície espumando devido à aeração.

Figura 27.19 **Sistema de lodo ativado de tratamento secundário de esgoto.**

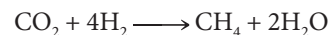
P **Quais são as similaridades entre a fabricação de vinho e o tratamento de esgoto pelo sistema de lodo ativado?**

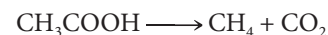
No tratamento secundário, enfatiza-se a manutenção das condições aeróbicas, de modo que a matéria orgânica é convertida em dióxido de carbono, água e sólidos que possam ser sedimentados. Um digestor anaeróbico de lodo, contudo, é projetado para favorecer o crescimento de bactérias anaeróbicas, especialmente bactérias produtoras de metano, que diminuem os sólidos orgânicos degradando-os em substâncias solúveis e gases, principalmente metano (60 a 70%) e dióxido de carbono (20 a 30%). O metano e o dióxido de carbono são produtos finais relativamente inócuos, em comparação com o dióxido de carbono e a água produzidos a partir do tratamento aeróbico. O metano é rotineiramente utilizado como combustível para o aquecimento do digestor e também gera energia para os equipamentos da estação de tratamento.

Figura 27.20 **Flocos formados pelo sistema de lodo ativado.** Massas gelatinosas de flocos são formadas por espécies de bactérias *Zoogloea*. Se as bactérias filamentosas visíveis na foto predominam, os flocos flutuam, o que é chamado de crescimento excessivo das bactérias filamentosas – o qual é indesejável.

P **O que acontece ao floco suspenso quando a aeração é finalizada em um tanque de lodo ativado?**

Existem essencialmente três estágios na atividade de um digestor de lodo anaeróbico. O primeiro estágio é a produção de dióxido de carbono e ácidos orgânicos a partir da fermentação anaeróbica do lodo por vários micro-organismos anaeróbicos e anaeróbicos facultativos. No segundo estágio, os ácidos orgânicos são metabolizados para formar hidrogênio e dióxido de carbono, bem como ácidos orgânicos como ácido acético. Esses produtos são matéria bruta para um terceiro estágio, no qual as bactérias produtoras de metano produzem o metano (CH_4). A maior parte do metano é proveniente da energia gerada pela redução do dióxido de carbono pelo gás hidrogênio:

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$

Outros micro-organismos produtores de metano quebram o ácido acético (CH_3COOH) para produzir metano e dióxido de carbono:

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

Depois que a digestão anaeróbica está completa, grandes quantidades de lodo não digerido ainda permanecem, embora sejam relativamente estáveis e inertes. Para reduzir seu volume, esse lodo é bombeado para os leitos de secagem rasos ou os filtros de extração de água. Após essa etapa, o lodo pode ser utilizado para

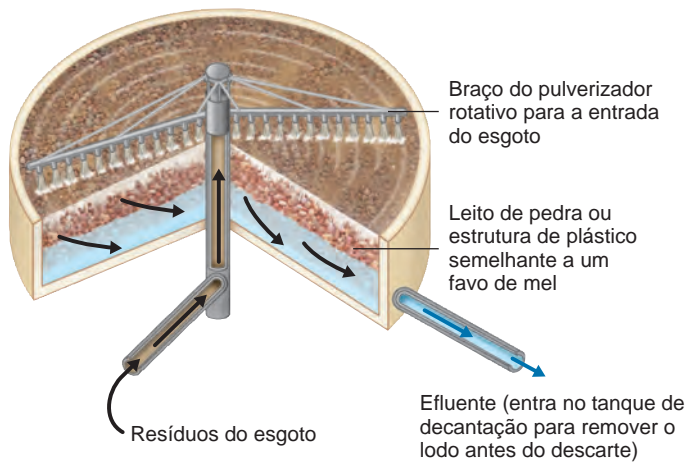
(a) Braço do pulverizador rotativo de um sistema de filtro biológico.

(b) Uma vista interna de um sistema de filtro biológico.

Figura 27.21 Filtro biológico de um tratamento de esgoto secundário. O esgoto é aspergido por um sistema de canos rotativos sobre um leito de pedras ou uma estrutura de plástico semelhante a um favo de mel projetado para ter uma área de superfície máxima e para permitir a penetração profunda do oxigênio no leito.

P O que tornaria mais eficiente o leito em um sistema de filtro biológico, areia fina ou bolas de golfe?

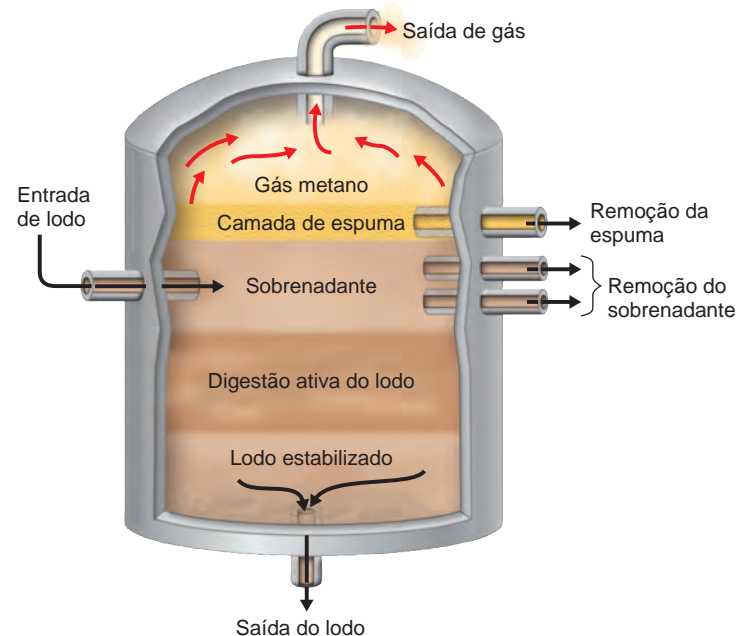
(a) Um digestor de lodo anaeróbico em uma estação de tratamento de esgoto na Califórnia. Uma grande parte ou todo o digestor típico está abaixo do nível do solo, especialmente em climas frios. O metano do digestor muitas vezes é usado para o funcionamento de bombas ou aquecedores nas plantas de tratamento. O excesso de metano está sendo queimado na chama mostrada no topo do digestor.

(b) Secção de um digestor de lodo. As camadas de espuma e de sobrenadante possuem poucos sólidos e são recirculadas pelo sistema de tratamento secundário.

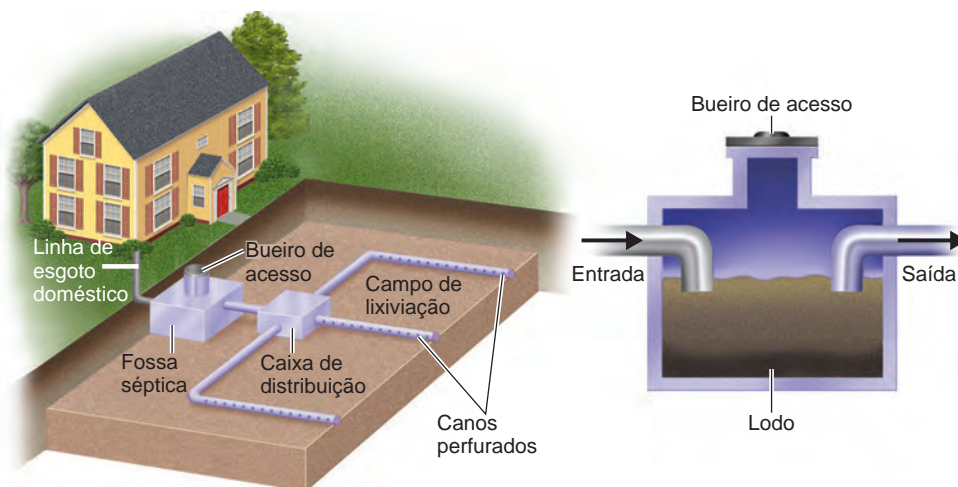
Figura 27.22 Digestão de lodo.

P Quais seriam as formas de utilização do lodo estabilizado?

aterro ou como condicionador de solo, às vezes sob o nome de *biossólido*.

O lodo é dividido em duas classes: o lodo classe A não contém patógenos detectáveis, e o lodo classe B é tratado somente para reduzir o número de patógenos a certos níveis. A maioria do lodo é classe B, e o acesso público a sítios de aplicação é limitado. O lodo possui cerca de um quinto do valor dos fertilizantes de gramado comerciais normais, mas possui qualidades condicionadoras de solo desejáveis, tanto do húmus quanto da cobertura morta. Um problema potencial é a contaminação por metais pesados que são tóxicos às plantas.

Fossas sépticas

As casas e as empresas em áreas de baixa densidade populacional que não estejam conectadas ao sistema municipal de esgoto muitas vezes utilizam as **fossas sépticas**, um sistema cujo funcionamento é semelhante ao princípio do tratamento primário (**Figura 27.23**). O esgoto entra em um tanque de retenção, e os sólidos suspensos são depositados no fundo. O lodo do tanque deve ser bombeado periodicamente e eliminado. O efluente flui através de um sistema de encanamento perfurado (drenagem do solo) para dentro de um campo de lixiviação. O efluente que entra no solo é decomposto por micro-organismos do solo. A ação microbiana necessária para o funcionamento adequado de um tanque séptico pode ser prejudicada pela quantidade excessiva de produtos como

(a) Um plano geral. A maioria da matéria orgânica solúvel é descartada por lixiviação no solo.

(b) Uma secção de uma fossa séptica.

Figura 27.23 **Sistema de fossa séptica.**

P **Que tipo de solo poderia necessitar de uma maior área de drenagem, argiloso ou arenoso?**

sabonetes antibacterianos, limpadores de ralos, medicamentos, produtos de limpeza para vaso sanitário provenientes da descarga e alvejantes.

Esses sistemas funcionam bem quando não são sobrecarregados e quando o sistema de drenagem possui o tamanho adequado para a carga e o tipo de solo. Solos com grandes quantidades de argila necessitam de um sistema de drenagem extensivo devido à fraca permeabilidade do solo. A alta porosidade de solos arenosos pode resultar na poluição química ou bacteriana de fontes de água próximas.

Lagoas de oxidação

Muitas indústrias e comunidades pequenas utilizam as **lagoas de oxidação**, também denominadas *lagoas* ou *tanques de estabilização*, para o tratamento de água. Elas têm um baixo custo de construção e funcionamento, mas necessitam de grandes áreas de terra. Os projetos variam, porém a maioria incorpora dois estágios. O primeiro é análogo ao tratamento primário; a lagoa de esgoto é profunda o suficiente para que as condições sejam quase inteiramente anaeróbicas. O lodo sedimenta nesse estágio. No segundo, que corresponde aproximadamente ao tratamento secundário; o efluente é bombeado para uma lagoa adjacente ou um sistema de lagoas rasas o suficiente para serem aeradas pela ação de ondas. Devido às dificuldades de manter as condições aeróbicas para o crescimento bacteriano nas lagoas com muita matéria orgânica, o crescimento de algas é favorecido para a produção de oxigênio. A ação das bactérias na decomposição da matéria orgânica dos resíduos gera dióxido de carbono. As algas, as quais utilizam dióxido de carbono em seu metabolismo fotossintético, crescem e produzem oxigênio, que por sua vez favorece a atividade de micro-organismos aeróbicos no esgoto. Grandes quantidades de matéria orgânica na forma de algas acumulam-se, mas isso não é um problema, pois a lagoa de oxidação, ao contrário de um lago, já possui uma grande carga de nutrientes.

Alguns pequenos sistemas de tratamento de esgoto, como aqueles de acampamentos isolados e áreas de lazer próximas a estradas, utilizam um *fosso de oxidação* para tratamento de esgoto. Nesse método, um pequeno canal oval na forma de pista de corrida é preenchido com água de esgoto. Uma roda d'água semelhante a antigos barcos a vapor do Mississipi, porém em um local fixo, impulsiona a água em um fluxo aerado suficiente para oxidar os resíduos.

Tratamento terciário do esgoto

Como vimos, os tratamentos primário e secundário de esgoto não removem toda a matéria orgânica biologicamente degradável. Quantidades de matéria orgânica que não são excessivas podem ser liberadas em uma corrente de água sem causar sérios problemas. Eventualmente, entretanto, as pressões de uma população em crescimento podem aumentar os resíduos acima da capacidade de carregamento do corpo de água, e tratamentos adicionais poderão ser necessários. Até o momento, os tratamentos primário e secundário são inadequados em certas situações, como quando o efluente é descartado em pequenos córregos ou lagos recreacionais. Portanto, algumas comunidades desenvolveram estações de **tratamento terciário do esgoto.** O lago Tahoe nas Montanhas de Serra Nevada, cercado por desenvolvimento extensivo, é o local com sistema de tratamento terciário de esgoto mais conhecido. Sistemas similares são utilizados para tratar resíduos que entram na porção sul da baía de São Francisco.

O efluente de uma estação de tratamento secundário contém somente DBO residual. Ele também contém aproximadamente 50% do nitrogênio original e 70% do fósforo original, que podem afetar bastante o ecossistema do lago. O tratamento terciário é requerido para remover essencialmente toda a DBO, o nitrogênio e o fósforo. O tratamento terciário depende menos do tratamento biológico do que dos tratamentos físicos e químicos. O fósforo é precipitado pela combinação com produtos químicos como cal, alumínio e cloreto férrico. Filtros de areias finas e carvão ativado removem pequenos materiais particulados e produtos químicos dissolvidos. O nitrogênio é convertido em amônia e liberado no ar por torres de remoção. Alguns sistemas favorecem as bactérias

desnitrificantes para a formação de gás nitrogênio volátil. Finalmente, a água purificada é clorada.

O tratamento terciário fornece água própria para consumo, porém o processo é extremamente caro. O tratamento secundário é mais barato, porém a água que passa somente por esse tratamento contém muitos poluentes. Muitos trabalhos vêm sendo realizados para projetar estações de tratamento secundário nas quais o efluente possa ser utilizado para irrigação. Esse projeto poderia eliminar a fonte de poluição da água, fornecendo nutrientes para o crescimento de plantas, e reduzir a demanda dos suprimentos de água já escassos. O solo no qual a água fosse usada poderia atuar como um filtro biológico para remover produtos químicos e micro-organismos antes que a água alcançasse os suprimentos subterrâneos e da superfície.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Que tipo de tratamento é apropriado para remover quase todo o fósforo do esgoto? **27-18**
- ✓ Que grupo metabólico de bactérias anaeróbicas é especialmente favorecido pela operação dos sistemas de digestão de lodo? **27-19**
- ✓ Qual é a relação entre DBO e as condições de vida dos peixes? **27-20**

* * *

Esperamos que este capítulo em microbiologia ambiental, assim como os capítulos anteriores do livro, tenham deixado você com um grande apreço em relação à influência dos micro-organismos ao nosso redor. Sem as aplicações naturais dos micro-organismos e as direcionadas pelo homem, a vida poderia ser bem diferente – e talvez não pudesse se manter.

RESUMO PARA ESTUDO

Diversidade microbiana e habitats (p. 767)

1. Os micro-organismos vivem em uma ampla variedade de habitats por causa da sua diversidade metabólica e sua capacidade de utilizar uma variedade de fontes de carbono e energia e crescer sob diferentes condições físicas.
2. Os extremófilos vivem em condições extremas de temperatura, acidez, alcalinidade ou salinidade.

Simbiose (p. 767)

3. A simbiose é uma relação entre dois organismos ou populações diferentes.
4. Fungos simbióticos denominados micorrizas vivem dentro e sobre as raízes de plantas; eles aumentam a área de superfície e a absorção de nutrientes da planta.

Microbiologia do solo e ciclos biogeoquímicos (p. 768-776)

1. Nos ciclos biogeoquímicos, determinados elementos são reciclados.
2. Micro-organismos no solo decompõem matéria orgânica e transformam compostos contendo carbono, nitrogênio e enxofre em formas utilizáveis.
3. Os micro-organismos são essenciais na continuidade dos ciclos biogeoquímicos.
4. Os elementos são oxidados e reduzidos pelos micro-organismos durante esses ciclos.

Ciclo do carbono (p. 768-770)

5. O dióxido de carbono é incorporado ou fixado a componentes orgânicos pelos fotoautotróficos e quimioautotróficos.
6. Esses compostos orgânicos fornecem nutrientes para os quimio-heterotróficos.
7. Os quimio-heterotróficos liberam CO_2, que é então utilizado pelos fotoautotróficos.
8. O carbono é removido do ciclo quando está no $CaCO_3$ e em combustíveis fósseis.

Ciclo do nitrogênio (p. 770-772)

9. Os micro-organismos decompõem proteínas de células mortas e liberam os aminoácidos.
10. A amônia é liberada pela amonificação microbiana dos aminoácidos.
11. O nitrogênio na amônia é oxidado para produzir nitratos pelas bactérias nitrificantes, para energia.
12. As bactérias desnitrificantes reduzem o nitrogênio dos nitratos a nitrogênio molecular (N_2).
13. O N_2 é convertido em amônia pelas bactérias fixadoras de nitrogênio.
14. Bactérias fixadoras de nitrogênio incluem os gêneros de vida livre como *Azotobacter*, cianobactérias e as bactérias simbióticas *Rhizobium* e *Frankia*.
15. A amônia e o nitrato são utilizados pelas bactérias e plantas para sintetizar aminoácidos que formam as proteínas.

Ciclo do enxofre (p. 772, 773)

16. O sulfeto de hidrogênio (H_2S) é utilizado pelas bactérias autotróficas; o enxofre é oxidado para formar S^0 ou SO_4^{2-}.
17. As plantas e outros micro-organismos podem reduzir SO_4^{2-} para produzir certos aminoácidos. Esses aminoácidos são, por sua vez, utilizados pelos animais.
18. O H_2S é liberado pela deterioração ou dissimilação desses aminoácidos.

Vida sem a luz solar (p. 773, 774)

19. Os quimioautotróficos são os produtores primários em orifícios do fundo do mar e dentro de rochas profundas.

Ciclo do fósforo (p. 774)

20. O fósforo (como PO_4^{3-}) é encontrado em rochas e guano de aves.
21. Quando solubilizado por ácidos microbianos, o PO_4^{3-} está disponível para plantas e micro-organismos.
22. As bactérias endolíticas vivem em rochas sólidas; essas bactérias autotróficas utilizam hidrogênio como fonte de energia.

Degradação de produtos químicos sintéticos no solo e na água (p. 775, 776)

23. Muitos produtos químicos sintéticos, como os pesticidas, são resistentes à degradação pelos micro-organismos.
24. O uso de micro-organismos para remover poluentes é denominado biorremediação.
25. O crescimento de bactérias degradadoras de óleo pode ser aumentado pela adição de fertilizantes de nitrogênio e fósforo.
26. Aterros de lixo municipais previnem a decomposição de resíduos sólidos por serem secos e anaeróbicos.
27. Em alguns aterros, o metano produzido pelos metanógenos pode ser recuperado como fonte de energia.
28. A compostagem pode ser utilizada para promover a biodegradação de matéria orgânica.

Microbiologia aquática e tratamento de esgoto (p. 776-789)

Micro-organismos aquáticos (p. 776-778)

1. O estudo dos micro-organismos e sua atividade em águas naturais é chamado de microbiologia aquática.
2. Águas naturais incluem lagos, lagoas, córregos, rios, estuários e oceanos.
3. A concentração de bactérias na água é proporcional à quantidade de matéria orgânica na água.
4. A maioria das bactérias aquáticas tende a crescer em superfícies em vez de ser flutuante livre.
5. A quantidade e a localização da microbiota de água doce dependem da disponibilidade de oxigênio e luz.
6. As algas fotossintéticas são os principais produtores de um lago; elas são encontradas em zonas limnéticas.
7. *Pseudomonas, Cytophaga, Caulobacter* e *Hyphomicrobium* são encontrados na zona limnética, onde o oxigênio é abundante.
8. Micro-organismos em águas estagnadas utilizam o oxigênio disponível e podem causar odores e morte aos peixes.
9. A ação das ondas aumenta a quantidade de oxigênio dissolvido.
10. Bactérias sulfurosas púrpuras e verdes são encontradas em zonas profundas, que contêm luz e H_2S, porém sem oxigênio.
11. O *Desulfovibrio* reduz o SO_4^{2-} a H_2S na lama bêntica.
12. Bactérias produtoras de metano também são encontradas na zona bêntica.
13. O fitoplâncton é o principal produtor do oceano aberto.
14. *Pelagibacter ubique* é um decompositor nas águas oceânicas.
15. As arquibactérias predominam abaixo de 100 m.
16. Algumas algas e bactérias são bioluminescentes. Elas possuem a enzima luciferase, que pode emitir luz.

Papel dos micro-organismos na qualidade da água (p. 778-782)

17. Os micro-organismos são filtrados da água que é lixiviada em suprimentos subterrâneos.
18. Alguns micro-organismos patogênicos são transmitidos para os seres humanos através de águas recreacionais e de consumo.
19. Os poluentes químicos resistentes podem estar concentrados em animais na cadeia alimentar aquática.
20. O mercúrio é metabolizado por algumas bactérias em um composto solúvel que é concentrado nos animais.
21. Nutrientes como os fosfatos causam o crescimento acelerado das algas, o que leva à eutrofização dos ecossistemas aquáticos.
22. Eutrofização é o resultado da adição de poluentes ou nutrientes naturais.
23. *Thiobacillus ferrooxidans* produz ácido sulfúrico em locais de mineração de carvão.

24. Os testes para a qualidade bacteriológica da água tem como base a presença de organismos indicadores, sendo os coliformes os mais comuns.
25. Coliformes são bastonetes aeróbicos ou anaeróbicos facultativos, gram-negativos, não formadores de endosporos, que fermentam a lactose com a produção de gás 48 horas após serem colocados no meio a 35ºC.
26. Coliformes fecais, predominantemente *E. coli*, são utilizados para indicar a presença de fezes humanas.

Tratamento de água (p. 782, 783)

27. Águas para consumo são mantidas em reservatórios o tempo suficiente para que o material suspenso decante.
28. O tratamento por floculação utiliza substâncias químicas como o alúmen para agregar e assentar o material coloidal.
29. A filtração remove cistos de protozoários e outros micro-organismos.
30. A água para consumo é desinfectada com cloro para matar as bactérias patogênicas remanescentes.

Tratamento de esgoto (águas residuais) (p. 783-789)

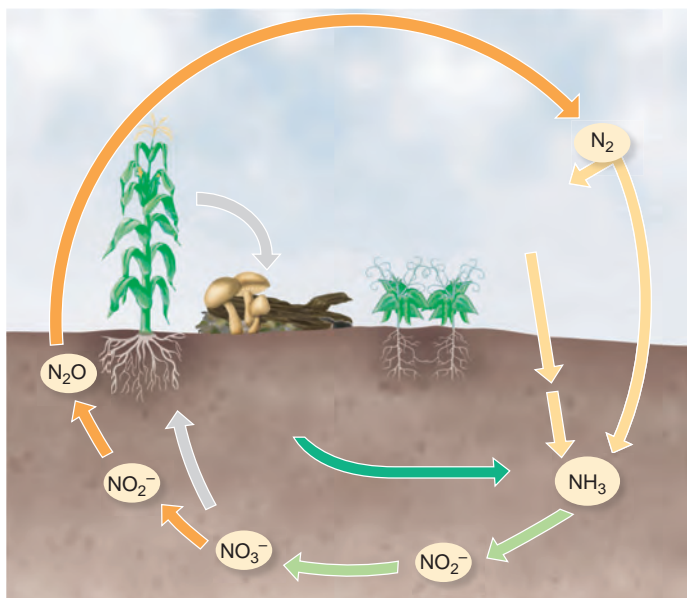
31. O resíduo líquido doméstico é denominado esgoto; ele inclui água de uso doméstico, resíduos sanitários e pluviais.
32. O tratamento primário do esgoto é a remoção de matéria orgânica denominada lodo.
33. A atividade biológica não é muito importante no tratamento primário.
34. A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) é a medida da matéria orgânica biologicamente degradável na água.
35. O tratamento primário remove em torno de 25 a 35% da DBO do esgoto.
36. A DBO é determinada pela medida da quantidade de oxigênio necessária para degradar a matéria orgânica.
37. O tratamento secundário do esgoto é a degradação biológica de matéria orgânica após o tratamento primário.
38. Os sistemas de lodo ativado, filtros biológicos e contactores biológicos rotativos são métodos de tratamento secundário.
39. Os micro-organismos degradam a matéria orgânica aerobicamente.
40. O tratamento secundário remove até 95% da DBO.
41. O esgoto tratado é desinfectado, normalmente por cloração, antes de ser liberado no solo ou na água.
42. O lodo é colocado no digestor de lodo anaeróbico; as bactérias degradam a matéria orgânica e produzem compostos orgânicos simples, metano e CO_2.
43. O metano produzido no digestor é utilizado para aquecê-lo e operar outros equipamentos.

44. O excesso de lodo é periodicamente removido do digestor, seco e jogado fora (como aterro ou condicionador de solo) ou incinerado.
45. As fossas sépticas podem ser utilizadas em áreas rurais para o tratamento primário do esgoto.
46. Comunidades pequenas podem usar lagoas de oxidação para o tratamento secundário.
47. Elas necessitam de uma área grande para a construção de um lago artificial.
48. O tratamento terciário do esgoto utiliza filtração física e precipitação química para remover toda a DBO, o nitrogênio e o fósforo da água.
49. O tratamento terciário fornece água para consumo, enquanto o tratamento secundário fornece somente água para irrigação.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. O coala é um animal que se alimenta de folhas. O que você pode constatar sobre seu sistema digestório?
2. Dê uma explicação possível para a produção de penicilina pelo *Penicillium*, uma vez que os fungos não desenvolvem infecções bacterianas.
3. No ciclo do enxofre, os micro-organismos degradam compostos orgânicos sulfurosos, como **(a)** ________________, para liberar H_2S, que pode ser oxidado por *Thiobacillus* em **(b)** ____________. Esse íon pode ser assimilado em aminoácidos por **(c)** ____________________ ou reduzido por *Desulfovibrio* em **(d)** ____________________. O H_2S é utilizado por bactérias fotoautotróficas como um doador de elétrons para sintetizar **(e)** ______________. O subproduto contendo enxofre desse metabolismo é **(f)** ______________________.
4. Por que o ciclo do fósforo é importante?
5. **DESENHE** Identifique onde os seguintes processos ocorrem: amonificação, decomposição, desnitrificação, nitrificação, fixação do nitrogênio. Cite pelo menos um micro-organismo responsável por cada processo.

6. Os organismos a seguir possuem um papel importante como simbiontes com plantas e fungos; descreva a relação simbiótica de cada organismo com o seu hospedeiro: cianobactérias, micorrizas, *Rhizobium*, *Frankia*.
7. Faça um resumo do processo de tratamento de água para consumo.
8. Os processos a seguir são utilizados no tratamento de águas residuais. Associe o estágio do tratamento com os processos. Cada opção pode ser usada uma vez, mais de uma vez ou não ser usada.

Processos	Estágios do tratamento
_________ **a.** Campo de lixiviação	**1.** Primário
_________ **b.** Remoção de sólidos	**2.** Secundário
_________ **c.** Degradação biológica	**3.** Terciário
_________ **d.** Sistema de lodo ativado	
_________ **e.** Precipitação química de fósforo	
_________ **f.** Filtro biológico	
_________ **g.** Resultados na água de consumo	

9. Biorremediação refere-se ao uso de micro-organismos vivos para a remoção de poluentes. Descreva três exemplos de biorremediação.

Múltipla escolha

Para as questões de 1 a 4, responda se

a. o processo ocorre sob condições aeróbicas.
b. o processo ocorre sob condições anaeróbicas.
c. a quantidade de oxigênio não faz qualquer diferença.

1. Sistema de lodo ativado.
2. Desnitrificação.
3. Fixação de nitrogênio.
4. Produção de metano.
5. A água utilizada para preparar soluções intravenosas em um hospital contém endotoxinas. O responsável pelo controle de infecções realiza contagens em placa para encontrar a fonte das bactérias. Os resultados são os seguintes:

	Bactérias/100 mL
Encanamento municipal de água	0
Caldeira	0
Linha de água quente	300

Todas as conclusões seguintes sobre as bactérias podem ser verdadeiras, exceto qual?

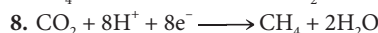
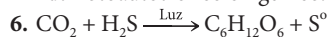
a. Elas estavam presentes como um biofilme nos canos.
b. Elas são gram-negativas.
c. Elas são resultantes da contaminação fecal.
d. Elas são resultantes do abastecimento de água da cidade.
e. Nenhuma das alternativas.

Utilize as seguintes alternativas para responder as questões 6 a 8:

a. Respiração aeróbica.
b. Respiração anaeróbica.
c. Fotoautotrófico anoxigênico.
d. Fotoautotrófico oxigênico.

6. $CO_2 + H_2S \xrightarrow{\text{Luz}} C_6H_{12}O_6 + S^o$

7. $SO_4^{2-} + 10H^+ + 10e^- \longrightarrow H_2S + 4H_2O$

8. $CO_2 + 8H^+ + 8e^- \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$

9. Todas as alternativas a seguir são efeitos da poluição da água, *exceto*:
a. Disseminação de doenças infecciosas.
b. Aumento da eutrofização.
c. Aumento da DBO.
d. Aumento do crescimento de algas.
e. Nenhuma das alternativas.

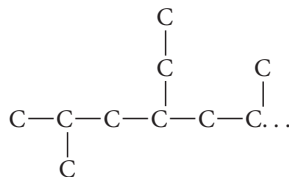
10. Os coliformes são utilizados como organismos indicadores da poluição de esgotos porque:
a. Eles são patógenos.
b. Eles fermentam lactose.
c. Eles são abundantes no intestino humano.
d. Eles se desenvolvem em 48 horas.
e. Todas as alternativas.

Pensamento crítico

1. Aqui estão representadas as fórmulas de dois detergentes que são manufaturados:

```
C—C—C—C—C—C—C—C—C—C. . .

                C
                |
                C       C
                |       |
     C—C—C—C—C—C. . .
         |
         C
```

Qual deles seria resistente e qual seria prontamente degradado por micro-organismos? (*Dica*: consulte a degradação de ácidos graxos no Capítulo 5.)

2. Explique o efeito do descarte de esgoto não tratado na eutrofização de uma lagoa. Que efeito o esgoto tem sobre o tratamento primário? Que efeito o esgoto tem sobre o tratamento secundário? Contraste suas respostas anteriores com o efeito que cada tipo de esgoto tem sobre a movimentação rápida do rio.

Aplicações clínicas

1. Inundações após duas semanas de chuvas intensas em Tooele, Utah, precederam uma alta taxa de diarreia. *G. lamblia* foi isolada de 25% dos pacientes. Um estudo comparativo de uma cidade a cerca de 100 km de distância mostrou que 2,9% de 103 pessoas entrevistadas apresentavam diarreia. Tooele tem um sistema municipal de tratamento de água e uma estação municipal de tratamento de esgoto. Explicar as causas prováveis da epidemia e os métodos para interrompê-la. O que um teste para coliformes fecais indicaria?

2. O processo de biorremediação mostrado na fotografia é usado para remover benzeno e outros hidrocarbonetos de solos contaminados por petróleo. Os canos são utilizados para adicionar nitratos, fosfatos, oxigênio ou água. Por que cada um deles é adicionado? Por que nem sempre é necessária a adição de bactérias?

28 Microbiologia Industrial e Aplicada

No capítulo anterior sobre microbiologia ambiental, compreendemos que os micro-organismos constituem um fator essencial em muitos fenômenos naturais que tornam possível a vida na Terra. Neste capítulo, veremos como os micro-organismos são aproveitados em aplicações úteis como produção de alimentos e produtos industriais. Muitos desses processos – especialmente a fabricação de pães, vinhos, cervejas e queijos – têm suas origens perdidas na história.

A civilização moderna, com sua grande população urbana, não poderia ser mantida sem os métodos de conservação de alimentos. Na verdade, a civilização surgiu somente depois que a agricultura produziu um suprimento estável de alimentos por ano, de modo que as pessoas foram capazes de abandonar a vida nômade do tipo caça e colheita. Esse fato representa um progresso em microbiologia, com sua contribuição sobre os processos de deterioração de alimentos e a possibilidade de disseminação de doenças em alimentos preservados, tornando-se mais tarde um elemento fundamental dessa ciência.

No Capítulo 9, discutimos as aplicações de micro-organismos geneticamente modificados que representam os atuais avanços em nosso conhecimento em biologia molecular. Muitas dessas aplicações são agora essenciais para a indústria moderna. (Veja o quadro no Capítulo 1, página 3.)

SOB O MICROSCÓPIO

Saccharomyces cerevisiae, uma levedura amplamente utilizada para finalidades industriais.

P&R

Para produzir etanol, as leveduras requerem condições anaeróbicas. Em qual processo industrial, amplamente utilizado, o crescimento de *Saccharomyces cerevisiae* exige condições aeróbicas?

Procure pela resposta neste capítulo.

Microbiologia dos alimentos

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

28-1 Descrever a deterioração termofílica anaeróbica e a deterioração por acidez plana por bactérias mesofílicas.

28-2 Comparar e distinguir preservação industrial de alimentos por enlatamento, empacotamento asséptico, radiação e altas pressões.

28-3 Nomear quatro atividades benéficas dos micro-organismos.

Muitos dos métodos de preservação de alimentos utilizados atualmente provavelmente foram descobertos ao acaso nos séculos passados. As pessoas nas culturas primitivas observaram que carnes secas e peixes curados resistiam ao processo de deterioração. Os nômades devem ter observado que o leite azedo dos animais continuava resistindo à decomposição e ainda assim mantinha-se saboroso. Além disso, se o coalho do leite azedo fosse pressionado para remover o líquido e deixado para maturar (na verdade, a produção de queijo), ele seria preservado de maneira eficiente e mais saboroso. Os fazendeiros logo aprenderam que, se os grãos fossem mantidos secos, não mofariam.

Alimentos e doenças

À medida que mais alimentos são preparados em instalações centrais e amplamente distribuídos, é cada vez mais provável que os alimentos, como os suprimentos de águas municipais, podem ser uma fonte de surtos de disseminação de doenças. Para minimizar o potencial de surtos de doenças, as comunidades norte-americanas estabeleceram agências locais cujo papel é inspecionar laticínios e restaurantes. A Food and Drug Administration (FDA) e o Departamento de Agricultura (USDA) dos Estados Unidos também mantêm um sistema de inspetores em portos e instalações centrais de processamento. Um avanço recente neste campo foi a introdução do sistema de **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC,** de *Hazard Analysis and Critical Control Point, HACCP*), o qual pretende garantir os alimentos "da fazenda até o prato". Antes da introdução do sistema APPCC, o principal papel das agências governamentais era coletar amostras para identificar alimentos contaminados. Essa amostragem para identificar contaminação ainda é realizada, mas o sistema APPCC foi desenvolvido para prevenir contaminações por meio da identificação dos pontos em que os alimentos apresentam maior probabilidade de serem contaminados por micro-organismos patogênicos. O monitoramento desses pontos de controle pode impedir que os micro-organismos sejam introduzidos ou, se estiverem presentes, interromper sua proliferação. Por exemplo, o sistema APPCC pode identificar as etapas durante o processamento nas quais as carnes são mais propensas a serem contaminadas pelos conteúdos intestinais dos animais. O sistema APPCC também necessita do monitoramento das temperaturas adequadas para matar os patógenos durante o processamento e das temperaturas adequadas de armazenamento para prevenir a reprodução dos micro-organismos.

Alimentos enlatados industrialmente

No Capítulo 7, você aprendeu que preservar alimentos aquecendo recipientes adequadamente vedados, como conservas domésticas, não é difícil. O desafio do processo de enlatamento para fins comerciais é utilizar a quantidade correta de calor necessária para matar organismos decompositores e micro-organismos perigosos, como o *Clostridium botulinum*, formador de endosporos, sem alterar a aparência e a palatabilidade dos alimentos. Assim, muitas pesquisas são realizadas para determinar o aquecimento mínimo exato que irá atingir os dois objetivos.

O enlatamento de produtos industriais é muito mais sofisticado tecnicamente que o enlatamento caseiro (**Figura 28.1**). Os pro-

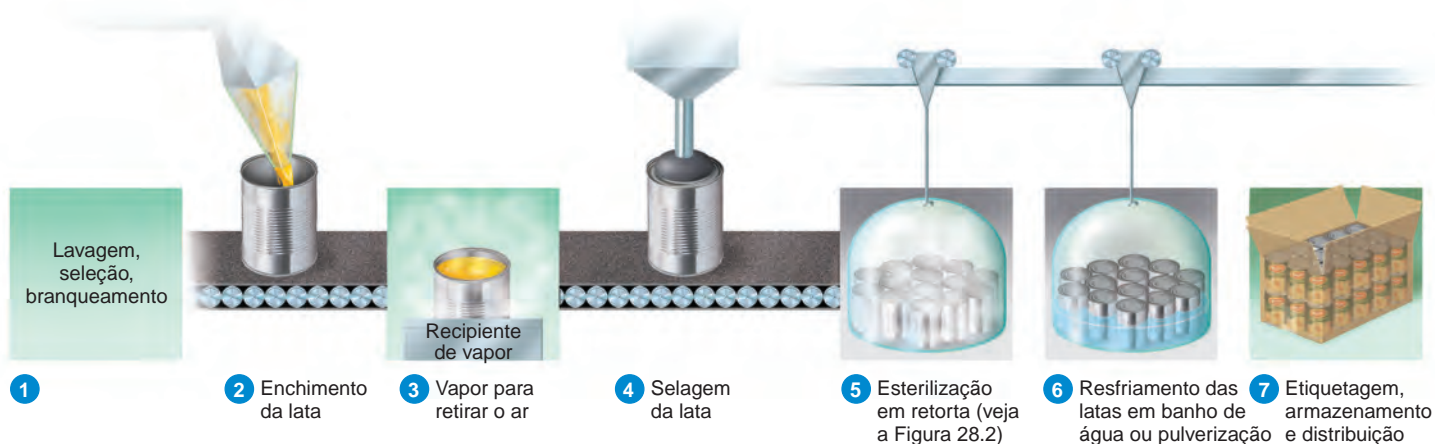



Figura 28.1 O processo de esterilização comercial no enlatamento industrial. ❶ O branqueamento é um tratamento com água quente ou vapor que amacia o produto para que a lata possa encher-se melhor. Ele também destrói enzimas que podem alterar a cor, o sabor ou a textura do produto e diminuir a população microbiana. ❷ As latas são enchidas até sua capacidade, deixando o mínimo de espaço vazio. ❸ Para retirar grande parte do ar dissolvido, as latas são aquecidas em um recipiente de vapor. ❹ As latas são seladas. ❺ As latas são esterilizadas por vapor sob pressão. ❻ As latas são resfriadas pela submersão ou pulverização de água. ❼ As latas são etiquetadas para venda.

P Como a esterilização comercial difere da esterilização completa?

dutos enlatados industrialmente passam pela **esterilização comercial** por vapor sob pressão em uma grande **retorta** (Figura 28.2), que opera com base no mesmo princípio da autoclave (veja a Figura 7.2, página 189). A esterilização comercial deve destruir endosporos de *C. botulinum* e não é tão rigorosa quanto a esterilização completa. A razão é que, se os endosporos de *C. botulinum* são destruídos, então quaisquer outras bactérias deteriorantes ou patogênicas significantes também podem ser destruídas.

Para garantir a esterilização comercial, aquecimento suficiente é aplicado ao **tratamento 12 D** (12 reduções decimais, ou cozimento botulínico), pelo qual uma população teórica de endosporos de *C. botulinum* será reduzida em 12 ciclos logarítmicos. (Veja a Figura 7.1 e a Tabela 7.2, páginas 186 e 187.) Isso significa que, se existirem 10^{12} (1.000.000.000.000) endosporos em uma lata, após o tratamento haverá somente um sobrevivente. Como 10^{12} é uma população supostamente grande, esse tratamento é considerado quase seguro. Algumas bactérias termofílicas formadoras de endosporos possuem endosporos que são mais resistentes ao tratamento térmico do que os de *C. botulinum*. Entretanto, essas bactérias são termófilos obrigatórios e geralmente permanecem dormentes em temperaturas abaixo de 45°C. Portanto, elas não são um problema de deterioração em temperaturas normais de armazenamento.

Figura 28.2 **Retortas para enlatamento comercial.** Esse processo é mais utilizado do que a esterilização por autoclave, utilizada em muitos laboratórios de microbiologia ou hospitais.

P **A princípio, existe alguma diferença entre o enlatamento por retorta e a esterilização por autoclave nos hospitais?**

Deterioração de alimentos enlatados

Se alimentos enlatados são submetidos a altas temperaturas, como em um caminhão sob sol quente ou próximo a um radiador a vapor, as bactérias termofílicas que frequentemente sobrevivem à esterilização comercial podem germinar e crescer. A **deterioração termofílica anaeróbica** é, portanto, uma causa bastante comum de deterioração de alimentos enlatados de baixa acidez. A lata muitas vezes pode estufar com o gás e seu conteúdo ter o pH diminuído, assim como apresentar um odor azedo. Diversas espécies termofílicas de *Clostridium* podem causar esse tipo de deterioração. Quando a deterioração termofílica ocorre, mas a lata não estufa com a produção de gás, ela é denominada **deterioração por acidez plana**. Esse tipo de deterioração é causado por organismos termofílicos como *Geobacillus stearothermophilus*, encontrado no amido e em açúcares utilizados na preparação de alimentos. Muitas indústrias possuem padrões para os números permitidos de cada bactéria termofílica nas matérias-primas. Ambos os tipos de deterioração ocorrem apenas quando as latas são estocadas em temperaturas mais elevadas que as normais, o que permite o crescimento de bactérias cujos endosporos não são destruídos pelo processamento normal.

Bactérias mesofílicas podem deteriorar alimentos enlatados se eles não forem processados corretamente ou se as latas apresentarem vazamentos. Falhas no processamento geralmente resultam em deterioração por bactérias formadoras de endosporos; a presença de bactérias não formadoras de endosporos sugere fortemente que as latas vazaram. Latas com vazamento com frequência são contaminadas durante o resfriamento após seu processamento pelo calor. As latas quentes são pulverizadas com água resfriada ou passam por uma canaleta cheia de água. No resfriamento das latas, forma-se um vácuo no seu interior, e a água externa pode ser sugada através de um buraco do vedador da emenda na tampa plissada (Figura 28.3). As bactérias contaminantes da água de resfriamento entram na lata juntamente com a água. A deterioração oriunda de falhas no processamento ou do vazamento da lata pode produzir odores de putrefação, ao menos em alimentos com alto teor de proteínas, e ocorre em temperaturas normais de armazenamento. Em cada um dos tipos de deterioração, existe sempre a possibilidade de que a bactéria do botulismo esteja presente.

Alguns alimentos ácidos, como tomates ou conservas de frutas, são preservados pelo processamento em temperaturas de 100°C ou abaixo. A razão é que os únicos organismos deteriorantes que cresceriam nesses alimentos ácidos são facilmente mortos em temperaturas até 100°C. Os micro-organismos são, principalmente, fungos filamentosos, leveduras e certas bactérias vegetativas.

Problemas ocasionais nos alimentos ácidos desenvolvem-se devido a alguns micro-organismos que são resistentes ao calor e ácido-tolerantes. Exemplos de fungos resistentes ao calor são *Byssochlamys fulva*, o qual produz um *ascósporo resistente ao calor*, e alguns fungos, especialmente espécies de *Aspergillus*, que algumas vezes produzem corpos resistentes especializados denominados esclerócios. Uma bactéria formadora de esporo, *Bacillus coagulans,* é incomum por ser capaz de crescer em pH próximo a 4,0. A Tabela 28.1 lista os tipos de deterioração em alimentos com acidez baixa e média.

Empacotamento asséptico

O uso de **empacotamento asséptico** para preservar alimentos aumentou nos últimos anos. Os pacotes em geral são feitos de alguns materiais que não suportam o tratamento térmico convencional, como o papel laminado ou o plástico. Os materiais de empacotamento vêm em rolos contínuos, sendo usados em máquinas que esterilizam o material com uma solução quente de peróxido de hidrogênio, algumas vezes auxiliadas pela luz ultravioleta (UV) (Figura 28.4). Recipientes de metal podem ser esterilizados por vapores superaquecidos ou outros métodos de altas temperaturas. Feixes de elétrons de alta energia também podem ser usados para esterilizar materiais de empacota-

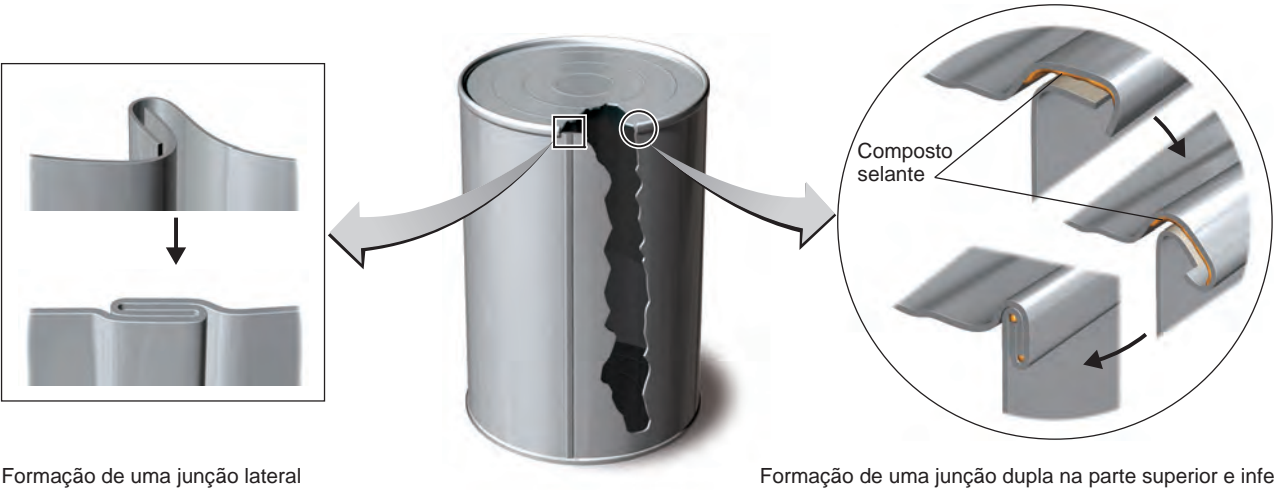



Figura 28.3 **A construção de uma lata metálica.** Observe a construção da costura da lata, que foi implementada aproximadamente em 1904. Durante o resfriamento após a esterilização (veja a Figura 28.1, etapa 6), o vácuo formado na lata pode realmente permitir a penetração de micro-organismos contaminantes na lata junto com a água.

P **Por que a lata não é selada antes de ser colocada no recipiente de vapor?**

mento. Enquanto isso, em ambiente estéril, o material é transformado em embalagens, as quais são preenchidas com alimentos líquidos que foram convencionalmente esterilizados pelo calor. A embalagem preenchida não é esterilizada depois de ser selada.

Radiação e preservação de alimentos industriais

É reconhecido que a radiação é letal para os micro-organismos; na verdade, uma patente foi obtida na Grã-Bretanha em 1905 para o uso de radiação ionizante para melhorar as condições de gêneros alimentícios. Os raios X foram recomendados em 1921 como uma forma de inativar larvas em carne de porco causadoras de triquinelose. A radiação ionizante inibe a síntese de DNA e efetivamente previne a reprodução de micro-organismos, insetos e plantas. A radiação ionizante normalmente é raios X ou raios gama produzidos pelo cobalto-60 radioativo. Até certos níveis de energia, elétrons de alta energia, produzidos por acelerador de elétrons, também são utilizados. A principal diferença prática é a capacidade de penetração. Essas fontes inativam os organismos-alvo e não induzem a radioatividade em alimentos e no material embalado. As doses de radiação relativa necessárias para matar vários organismos são mostradas na **Tabela 28.2**. A radiação é medida em Grays, nome dado em homenagem a um dos primeiros radiologistas – usualmente em termos de milhares de Grays, abreviado como kGy.

- *Baixas doses de radiação (menores que 1 kGy)* são usadas para matar insetos (desinfestação) e inibir o brotamento, como em batatas estocadas. Da mesma forma, podem ser usadas para retardar o processo de amadurecimento de frutas durante a estocagem.
- *Doses de pasteurização (1 a 10 kGy)* podem ser usadas em carnes de gado e aves para eliminar ou reduzir significativamente o número de bactérias patogênicas específicas.
- *Altas doses (maiores que 10 kGy)* são usadas para esterilizar, ou no mínimo reduzir significativamente, a população bacteriana em vários tipos de especiarias. Especiarias com frequência são

Tabela 28.1 **Tipos comuns de deterioração em alimentos enlatados de acidez baixa e média (pH acima de 4,5)**

	Indicação de deterioração	
Tipo de deterioração	**Aparência da lata**	**Conteúdo da lata**
Acidez plana (*Geobacillus stearothermophilus*)	Não intumescida	Aparência normalmente não alterada; pH acentuadamente baixo; azedo; pode ter um cheiro ligeiramente anormal; algumas vezes com líquido turvo
Anaeróbica termofílica (*Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*)	Intumescida	Fermentado, azedo, aspecto de queijo ou odor de ácido butírico
Anaeróbica putrefativa (*Clostridium sporogenes*; possivelmente *C. botulinum*)	Intumescida	Pode estar parcialmente digerido; pH ligeiramente acima do normal; odor pútrido típico

Figura 28.4 **Empacotamento asséptico.** Rolos do material de empacotamento em primeiro plano, pacotes cheios no centro à direita.

P **Por que o uso desse procedimento tem aumentado nos últimos anos?**

Tabela 28.2 **Doses aproximadas de radiação necessárias para matar vários organismos (prions não são afetados)**

Organismos	Dose (kGy)*
Animais superiores (corpo inteiro)	0,005 a 0,1
Insetos	0,01 a 1
Bactérias não formadoras de endosporos	0,5 a 10
Esporos bacterianos	10 a 50
Vírus	10 a 200

*Gray é a medida de radiação ionizante; kGy é 1.000 Grays.

Fonte: J. Farkas, "Physical Methods of Food Preservation", in *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2ª ed., M.P. Doyle et al. (eds) (Washington, DC: ASM Press, 2001).

contaminadas com 1 milhão ou mais bactérias por grama, embora esses valores normalmente não sejam considerados perigosos para a saúde.

Um uso especializado da radiação é a esterilização de carnes consumidas pelos astronautas norte-americanos, e algumas unidades de saúde têm usado radiação seletivamente para esterilizar comidas ingeridas por pacientes imunocomprometidos. Milhões de aparelhos médicos implantados, como marca-passos, são irradiados. Alimentos irradiados são identificados nos Estados Unidos com um símbolo radura (**Figura 28.5**) e um aviso impresso. Infelizmente, esse símbolo muitas vezes tem sido interpretado como uma advertência em vez de uma descrição de um processo de tratamento aprovado ou preventivo. Na verdade, alimentos irradiados não são radioativos; considere que a mesa de raios X em um hospital não se torna radioativa após exposições diárias a radiações ionizantes. Recentemente, a FDA permitiu, mediante aprovação específica, a substituição do termo "irradiação" por "pasteurização".

Figura 28.5 **Símbolo da irradiação.** Este símbolo, o símbolo radura internacional, indica que um alimento recebeu tratamento por irradiação.

P **Irradiação é o mesmo que aditivo químico?**

Quando a profundidade de penetração da irradiação é um requisito, o método preferencial é a irradiação por raios gama produzida por cobalto-60. Entretanto, esse tipo de tratamento exige várias horas de exposição em isolamento atrás de paredes de proteção (**Figura 28.6**).

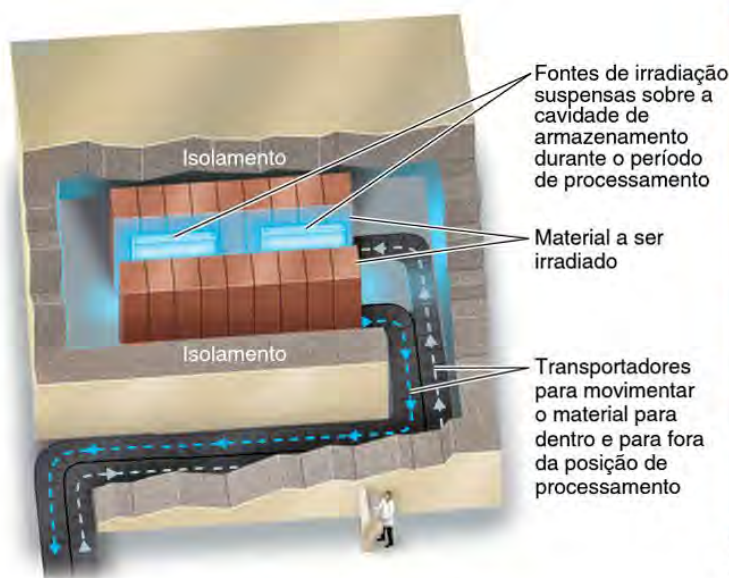
Aceleradores de elétrons de alta energia (**Figura 28.7**) são muito mais rápidos e esterilizam em poucos segundos, mas esse tratamento tem baixo poder de penetração e é indicado somente para carnes e bacon fatiados ou produtos finos semelhantes. Além disso, objetos plásticos utilizados em microbiologia geralmente também são esterilizados dessa forma. Outra aplicação recente é a irradiação de cartas para eliminar micro-organismos com potencial para bioterrorismo, como os esporos do antraz.

Preservação de alimentos por alta pressão

Um desenvolvimento recente na preservação de alimentos é o uso de técnicas de processamento de alta pressão. Alimentos embalados como frutas, carnes finas e tiras de frango pré-cozidas são submergidos em tanques de água pressurizada. A pressão pode alcançar 87.000 libras por polegadas ao quadrado (psi) que é equivalente a três elefantes em pé sobre uma moeda de dez centavos. Esse processo mata muitas bactérias, como *Salmonella, Listeria* e linhagens patogênicas de *E. coli*, por interromper muitas funções celulares. Ele também mata micro-organismos não patogênicos que tendem a diminuir a data de validade dos produtos.

Devido ao fato de esse processo não exigir o uso de aditivos, não requer aprovação regulamentar. Ele tem a vantagem de preservar as cores e os sabores dos alimentos melhor que outros métodos e não gerar preocupação com os efeitos da irradiação.

Papel dos micro-organismos na produção de alimentos

No final do século XIX, os micro-organismos usados na produção de alimentos foram cultivados em cultura pura pela primeira vez. Esse rápido desenvolvimento levou a um melhor entendimento das relações entre micro-organismos específicos e seus produtos e atividades. Esse período pode ser considerado o início da microbiologia industrial de alimentos. Por exemplo, uma vez com-

(a) Um equipamento de irradiação mostrando o caminho do material a ser irradiado.

(b) A fonte de irradiação está na posição mais baixa da cavidade de armazenamento. O brilho azul é a radiação Cerenkov causada pelas partículas carregadas que ultrapassam a velocidade da luz na água.

Figura 28.6 Um equipamento de irradiação por raios gama.

P Micro-ondas podem ser utilizadas para esterilizar alimentos?

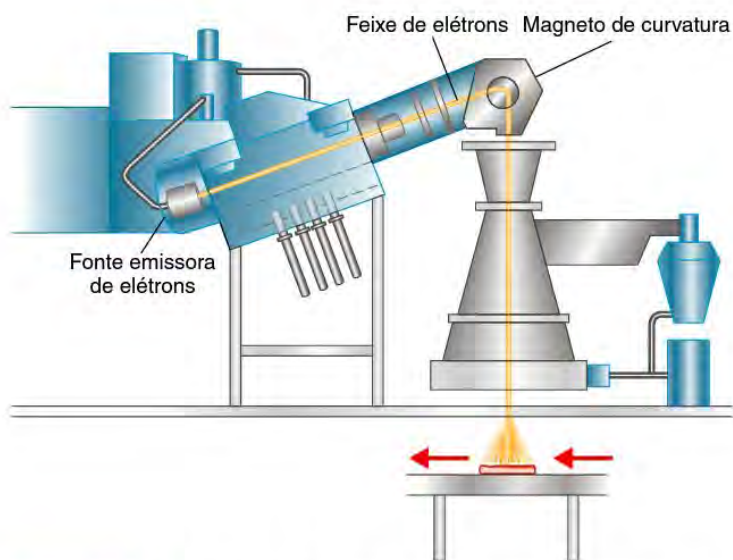



Figura 28.7 Acelerador de feixe de elétrons. Estas máquinas geram um feixe de elétrons que é acelerado por meio de um longo tubo por eletromagnetos de carga oposta. No desenho, o feixe de elétrons é desviado por um "magneto curvado". Ele serve para desviar os elétrons de níveis de energia indesejados, fornecendo um feixe de energia uniforme. O feixe vertical varre o alvo para a frente e para trás à medida que passa por ele. O poder de penetração do feixe é limitado: se o material-alvo tem uma espessura equivalente à da água, o limite máximo de penetração é de aproximadamente 3,9 cm. Por outro lado, os raios X penetrarão cerca de 23 cm.

P Elétrons de alta energia são radiação ionizante?

preendido que o crescimento de leveduras sob condições específicas produzia cerveja e que certas bactérias poderiam estragar essa cerveja, os cervejeiros conseguiram controlar melhorar a qualidade dos produtos. Indústrias específicas tornaram-se ativas na pesquisa em microbiologia e selecionaram alguns micro-organismos por suas qualidades especiais. A indústria cervejeira investigou extensivamente o isolamento e a identificação de leveduras e selecionou aquelas que poderiam produzir mais álcool. Nesta seção, discutiremos o papel dos micro-organismos na produção de vários alimentos comuns.

Queijo

Os Estados Unidos lidera a produção mundial de queijos, com milhares de toneladas a cada ano. Embora existam muitos tipos de queijos, todos necessitam da formação de um **coalho**, que pode ser separado da fração líquida principal, ou **soro** (Figura 28.8). O coalho é composto de uma proteína, a **caseína**, e comumente é formado pela ação de uma enzima, a **renina** (ou quimosina), a qual é favorecida pelas condições ácidas produzidas por certas bactérias do ácido lático. As bactérias láticas inoculadas também fornecem os sabores e aromas característicos dos produtos lácteos fermentados durante o processo de maturação. O coalho passa por um processo de maturação microbiológica, exceto para alguns queijos não maturados, como a ricota e o queijo cottage.

Os queijos geralmente são classificados por sua consistência, produzida durante o processo de maturação. Quanto maior a perda da umidade e mais compactado for o coalho, mais firme o queijo. Os queijos romano e parmesão, por exemplo, são clas-

(a) O leite foi coagulado pela ação da renina (formação do coalho) e inoculado com bactérias de maturação para sabor e acidez. Aqui os trabalhadores estão cortando o coalho em fatias grossas.

(b) O coalho é cortado em pequenos cubos para facilitar a drenagem eficiente do soro.

(c) O coalho é triturado, para permitir melhor drenagem do soro, e prensado em blocos, para o aumento da maturação. Quanto maior o período de maturação, mais ácido (aroma forte) será o queijo.

Figura 28.8 **Fabricação do queijo cheddar.**

P **Na produção do queijo existem bactérias vivas no produto final?**

sificados como queijos muito firmes; o cheddar e o queijo suíço são classificados como firmes. Limburger, azul e Roquefort são classificados como semimacios; Camembert é um exemplo de queijo macio.

Os queijos firmes cheddar e suíço são maturados pelo crescimento anaeróbico das bactérias do ácido lático no seu interior. O interior desses queijos maturados pode ser muito mais firme do que normalmente ocorre. Quanto maior o tempo de incubação, maior a acidez e mais acentuado o sabor do queijo. Uma espécie de *Propionibacterium* produz dióxido de carbono, que forma os buracos no queijo suíço. Queijos macios como Limburger são maturados por bactérias e outros organismos contaminantes que crescem na superfície. Os queijos azul e Roquefort são maturados pelo fungo *Penicillium* inoculado dentro do queijo. A textura do queijo é mole ou macia o bastante para que uma quantidade adequada de oxigênio possa atingir os fungos aeróbicos. O crescimento do fungo *Penicillium* é visualizado como manchas azul-esverdeadas no queijo. O queijo Camembert é maturado em pequenos pacotes, de forma que as enzimas produzidas pelo crescimento aeróbico do fungo *Penicillium* difundam-se no queijo para maturação. O quadro da página 801 descreve um uso do soro como subproduto da indústria de laticínios.

Outros produtos lácteos

A manteiga é produzida pela nata do leite batida até a gordura ser separada do *leite de manteiga (leitelho).* O sabor e o aroma típicos da manteiga e do leitelho são devidos ao *diacetil*, uma combinação de duas moléculas de ácido acético, que é um produto final metabólico da fermentação de algumas bactérias do ácido lático. Hoje, o leitelho comercializado não é um subproduto da fabricação da manteiga, mas é produzido pela inoculação do leite desnatado com bactérias que formam ácido lático e diacetil. O *creme azedo cultivado* é feito de creme inoculado com micro-organismos semelhantes àqueles utilizados para fabricar o leitelho.

Uma grande variedade de laticínios ligeiramente ácidos – provavelmente uma herança do passado nômade – é encontrada ao redor do mundo. Muitos deles são parte da dieta diária dos Bálcãs, na Europa oriental e na Rússia. Um desses produtos é o *iogurte,* que também é popular nos Estados Unidos. O iogurte comercial é feito de leite, do qual pelo menos um quarto da água é evaporado em uma panela a vácuo. O leite engrossado resultante é inoculado com uma cultura mista de *Streptococcus thermophilus,* principalmente para a produção de ácido, e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, que contribui para o aroma e o sabor. A temperatura da fermentação é em torno de 45°C por várias horas e, durante esse tempo, o crescimento do *S. thermophilus* ultrapassa o de *L. d. bulgaricus.* A manutenção de um equilíbrio adequado entre os micro-organismos produtores de sabor e de ácido é o segredo da fabricação do iogurte.

O *kefir* e o *kumiss* são bebidas lácteas fermentadas populares na Europa oriental. As bactérias láticas utilizadas normalmente são suplementadas com leveduras fermentadoras de lactose, para dar a essas bebidas um teor alcoólico de 1 a 2%.

Outras fermentações

Historicamente, a fermentação do leite permitiu que os laticínios fossem armazenados e então consumidos muito depois. Outras

fermentações microbianas foram usadas para tornar certas plantas comestíveis. Por exemplo, as populações pré-colombianas na América Central e do Sul aprenderam a fermentar as sementes de cacau antes do consumo. Os produtos microbianos liberados durante a fermentação produzem o sabor do chocolate.

Os micro-organismos também são utilizados na produção de pães. Os açúcares na massa do pão são fermentados pelas leveduras. A espécie de levedura utilizada para produzir pães é a *Saccharomyces cerevisiae*. Essa mesma espécie de levedura é utilizada na produção de cerveja a partir de grãos e na fermentação de vinhos a partir de uvas. (Em um determinado momento, *S. cerevisiae* foi classificada em múltiplas espécies, como *S. carlsbergensis, S. uvarum* e *S. ellipsoideus*; estes e alguns outros nomes de espécies são encontrados na literatura mais antiga.) *S. cerevisiae* é capaz de crescer facilmente sob condições tanto aeróbicas quanto anaeróbicas, embora, ao contrário das bactérias anaeróbicas facultativas como a *E. coli*, não possa crescer em condições anaeróbicas indefinidamente. Diversas linhagens de *S. cerevisiae* se desenvolveram ao longo dos séculos e estão altamente adaptadas a determinadas utilizações em processos fermentativos.

P&R Condições anaeróbicas para a produção de etanol por leveduras são obrigatórias na fabricação de bebidas alcoólicas. Na fabricação de pães, o dióxido de carbono forma as bolhas típicas de pães fermentados. As condições aeróbicas favorecem a produção de dióxido de carbono e são estimuladas o máximo possível. Essa é a razão pela qual a massa de pão é amassada repetidamente. Todo etanol produzido evapora durante o tempo em que o pão é assado. Em alguns pães, como os de centeio e de massa azeda, o desenvolvimento de bactérias láticas produz um sabor azedo típico.

A fermentação também é utilizada na produção de alimentos como *chucrute, picles, azeitonas* e mesmo cacau e café, nos quais os grãos são submetidos a uma etapa de fermentação.

Bebidas alcoólicas e vinagre

Os micro-organismos são utilizados na produção de quase todas as bebidas alcoólicas. As cervejas são produzidas a partir da fermentação do amido de cereais por leveduras. A **cerveja** é fermentada lentamente pelas linhagens de leveduras que permanecem no fundo dos tanques (*leveduras de fundo*). A **cerveja ale** tem fermentação relativamente rápida, a uma temperatura elevada, com linhagens de leveduras que normalmente formam grupos que flutuam até o topo por causa do CO_2 (*leveduras de topo*). Como as leveduras não são capazes de fermentar o amido diretamente, o amido dos grãos deve ser convertido a glicose e maltose, que podem ser fermentadas pelas leveduras em etanol e dióxido de carbono. Nessa conversão, denominada **maltagem,** os grãos contendo o amido, como a maltagem da cevada, são colocados para germinar e então são secos e moídos. O produto, denominado **malte**, possui enzimas degradadoras de amido (amilases), que transformam o amido dos cereais em carboidratos que podem ser fermentados pelas leveduras. Cervejas *light* usam amilases ou linhagens selecionadas de leveduras para converter uma maior quantidade do amido em glicose e maltose fermentável, resultando em menos carboidratos e mais álcool. A cerveja é então diluída para atingir uma porcentagem alcoólica dentro da faixa usual. O **sakê**, o vinho de arroz japonês, é feito a partir do arroz sem a maltagem, pois o fungo *Aspergillus* é inicialmente utilizado para converter o amido do arroz em açúcares que podem ser fermentados. (Veja a discussão sobre o koji, página 805.) Para as *bebidas alcoólicas destiladas*, como *whisky, vodka e rum*, os carboidratos obtidos a partir dos grãos de cereais, batatas e melaço são fermentados até álcool, que é então destilado para a produção de bebidas alcoólicas concentradas.

Os *vinhos* são produzidos a partir de frutas, comumente uvas, que contêm açúcares que as leveduras podem utilizar diretamente para fermentação; a maltagem é desnecessária na produção do vinho. As uvas normalmente não necessitam da adição de açúcares, mas outras frutas devem ser suplementadas com açúcares para garantir a produção suficiente de álcool. As etapas para a produção de vinho são mostradas na **Figura 28.9**. As bactérias do ácido lático são importantes quando o vinho é feito de uvas que são especialmente ácidas devido a altas concentrações de ácido málico. Essas bactérias convertem o ácido málico em ácido lático mais fraco em um processo chamado de **fermentação malolática**. O resultado é um vinho menos ácido, que apresenta sabor melhor do que se fosse produzido de outra forma.

Produtores que deixaram vinho exposto ao ar perceberam que ele azedava devido ao crescimento de bactérias aeróbicas que convertem o etanol do vinho em ácido acético. O resultado é o *vinagre* (*vinu* = vinho; *acre* = azedo). O processo é agora utilizado intencionalmente para produzir vinagre. O etanol é inicialmente produzido pela fermentação anaeróbica de carboidratos pelas leveduras. Ele é então oxidado em condições aeróbicas em ácido acético pelas bactérias produtoras de ácido acético dos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ O botulismo é um grande perigo para a deterioração de enlatados sob condições termofílicas ou mesofílicas? **28-1**
- ✓ No enlatamento de alimentos normalmente são utilizadas latas de metal. Que tipo de embalagem é utilizado para o empacotamento asséptico de alimentos? **28-2**
- ✓ Os queijos Roquefort e azul são caracterizados por manchas azul-esverdeadas. O que são essas manchas? **28-3**

Microbiologia industrial

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

28-4 Definir *fermentação industrial* e *biorreator*.

28-5 Diferenciar metabólitos primários e secundários.

28-6 Descrever o papel dos micro-organismos na indústria de produtos químicos e farmacêuticos.

28-7 Definir *bioconversão* e especificar suas vantagens.

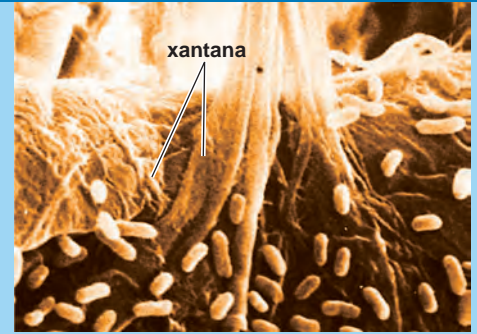
28-8 Descrever os biocombustíveis que podem ser feitos por micro-organismos.

Os usos industriais da microbiologia tiveram início com a fermentação de alimentos em larga escala que produziu ácido lático a partir dos laticínios e etanol a partir da cerveja. Essas duas substâncias químicas também se mostraram úteis em processos industriais não relacionados com a produção de alimentos. Durante a Primeira e Segunda Guerra Mundial, a fermentação microbiana e tecnologias similares foram usadas na produção de armamentos relacionados

De doenças de plantas a xampus e molhos para saladas

***Xanthomonas campestris* é um bastonete gram-negativo** que causa uma doença chamada de podridão negra em plantas. Depois de acessar os tecidos vasculares das plantas, a bactéria usa a glicose transportada nos tecidos para produzir uma substância pegajosa, semelhante a uma goma. Essa substância acumula-se para formar massas gomosas, as quais eventualmente bloqueiam o transporte de nutrientes das plantas. A goma que forma essas massas, a xantana, é composta de um polímero de manose de alto peso molecular (veja a fotografia).

Em contraste com seus efeitos nas plantas, as xantanas não têm efeito adverso quando ingeridas por seres humanos. Consequentemente, as xantanas podem ser usadas como espessantes em alimentos, como laticínios e molhos para saladas, e em cosméticos, como cremes e xampus.

O norte-americano consome em média mais de 13 kg de queijo anualmente, e cada 2 kg de queijo produz cerca de 4 L do líquido do subproduto chamado soro. Quando pesquisadores do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) quiseram encontrar algum produto útil que pudesse ser obtido a partir do soro, um resíduo líquido produzido em abundância pela indústria de laticínios, pensaram em transformá-lo em xantana. Entretanto, como o soro é principalmente água e lactose, os pesquisadores tiveram que descobrir como *X. campestris* produz xantana utilizando lactose em vez de glicose.

Xanthomonas campestris produzindo xantana pegajosa. MEV 2 μm

Uma equipe de pesquisadores trabalhando com o USDA na *Stauffer Chemical Company* utilizou uma abordagem simples – um enriquecimento com base apenas em duas exigências: que a bactéria crescesse no soro do leite e que produzisse xantana. Inicialmente, eles inocularam *X. campestris* em um meio de soro e incubaram por 24 horas. Então, transferiram um inóculo desta cultura para um frasco de caldo de lactose, para selecionar as células que utilizam lactose. A linhagem não tinha que produzir xantana a partir desse caldo; ela tinha apenas que crescer e utilizar lactose.

A linhagem que utilizou lactose foi isolada por meio de transferências seriadas, e foi selecionada aquela linhagem com melhor habilidade de crescer. Depois da incubação por 10 dias, um inóculo foi transferido para outro frasco de caldo de lactose, e o procedimento foi repetido mais duas vezes. Quando transferidas para um frasco com meio de soro de leite, as bactérias capazes de utilizar lactose multiplicaram-se no soro, e a cultura tornou-se extremamente viscosa – a xantana estava sendo produzida.

O resultado final foi um processo no qual 40 g/L do soro em pó foram convertidos em 30 g/L de goma de xantana. Uma rápida observação dos rótulos dos produtos nos supermercados de sua vizinhança vai demonstrar o quão bem-sucedido foi esse projeto.

com componentes químicos, como o glicerol e a acetona. A microbiologia industrial atual utiliza grande parte dessa tecnologia desenvolvida para produzir antibióticos, após a Segunda Guerra Mundial.

Existe agora um interesse renovado em algumas dessas fermentações da microbiologia clássica, especialmente se elas puderem ser utilizadas em matérias-primas, produtos que são renováveis ou, de preferência, produtos que seriam de outra forma descartados.

Nos últimos anos, a microbiologia industrial tem sido revolucionada pela aplicação de organismos geneticamente modificados. Um exemplo de *biossensor* modificado por engenharia genética para detectar poluição é explicado no quadro da página 780. No Capítulo 9, discutimos os métodos para modificar organismos utilizando a tecnologia do DNA recombinante e descrevemos alguns produtos derivados; essa tecnologia agora é conhecida como **biotecnologia**.

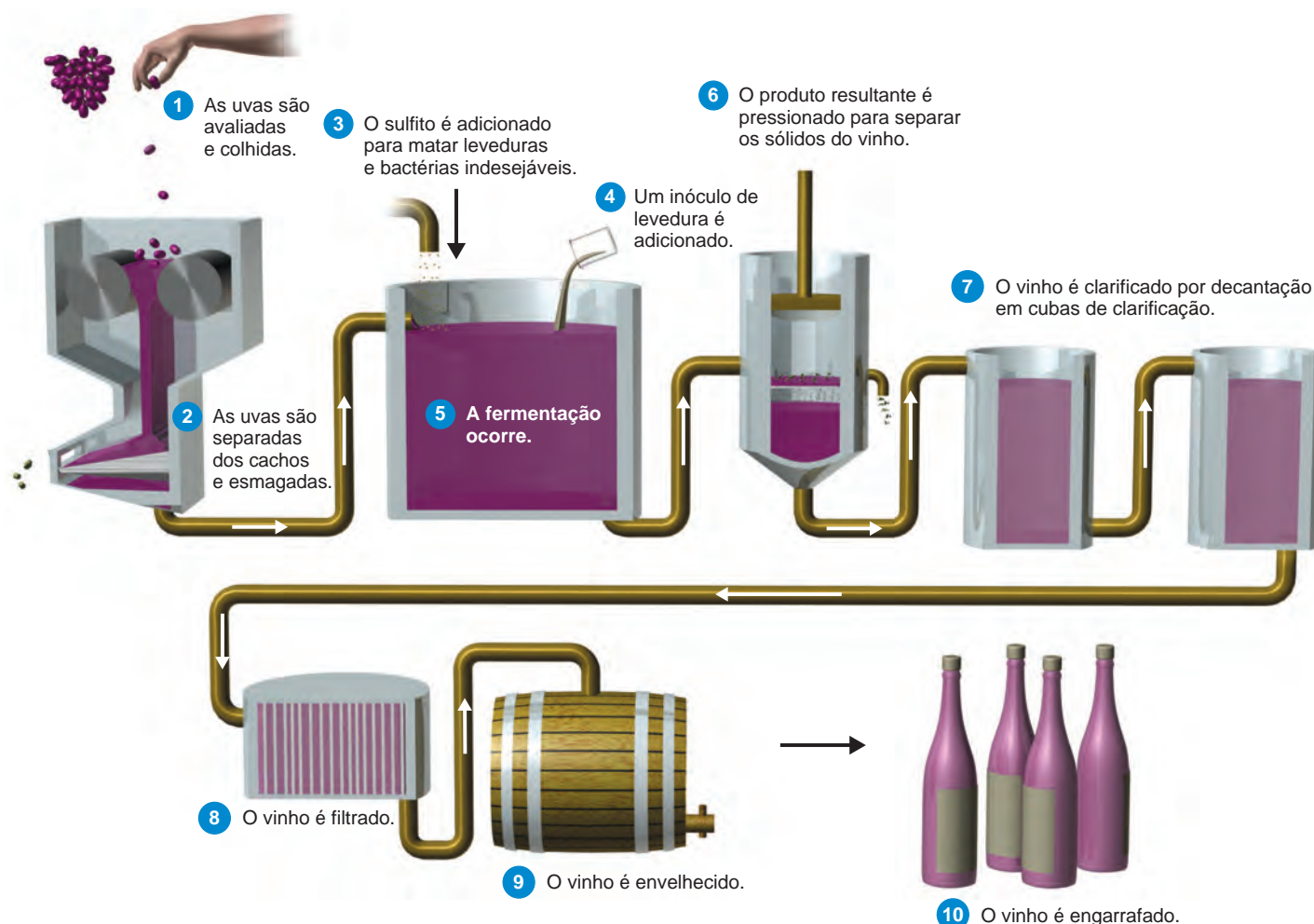



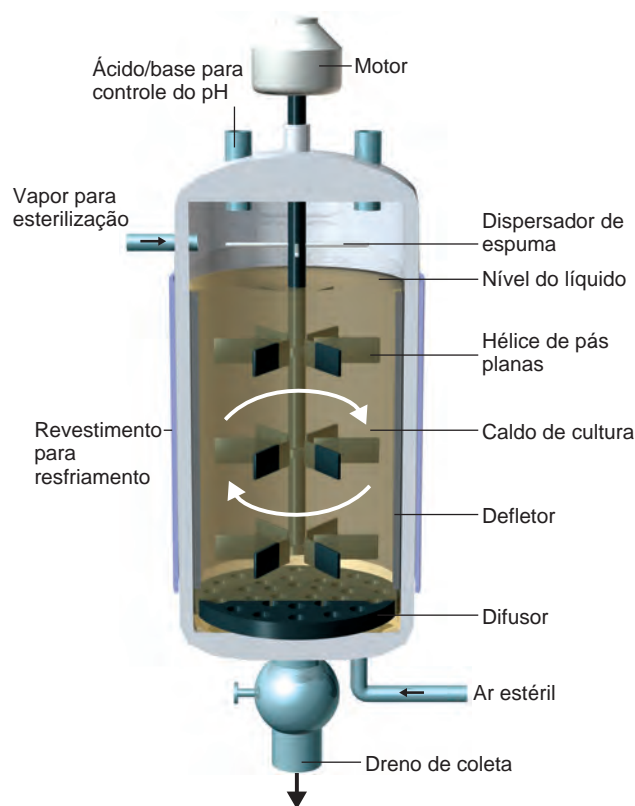
Figura 28.9 **As etapas básicas da fabricação do vinho tinto.** Para o vinho branco, a prensagem das uvas antecede a fermentação, de modo que a cor não é extraída do material sólido.

P **Qual é a finalidade de se adicionar leveduras na etapa 4?**

Tecnologia das fermentações

A fabricação industrial de produtos microbianos normalmente envolve fermentações. A *fermentação industrial* é um cultivo em larga escala de micro-organismos ou outras células únicas para produzir substâncias de valor comercial. (Veja o quadro no Capítulo 5, página 135, para outras definições de *fermentação.*) Discutimos os exemplos mais familiares: as fermentações anaeróbicas de alimentos utilizadas nas indústrias de produção de laticínios, cervejas e vinhos. Muitas dessas tecnologias, com a adição frequente de aeração, foram adaptadas para a fabricação de outros produtos industriais, como a insulina e o hormônio do crescimento humano, a partir de micro-organismos geneticamente modificados. A fermentação industrial também é utilizada na biotecnologia para obtenção de produtos úteis a partir de células geneticamente modificadas de plantas e animais (veja o Capítulo 9). Por exemplo, células animais são utilizadas para a produção de anticorpos monoclonais (veja o Capítulo 18, página 507).

Recipientes para a fermentação industrial são denominados **biorreatores**; eles são projetados com atenção especial para a aeração e o controle de pH e de temperatura. Existem muitos tipos de equipamentos diferentes, mas os mais amplamente utilizados são os biorreatores de agitação contínua (**Figura 28.10**). O ar é introduzido por meio de um difusor na base (que quebra o fluxo de ar de entrada para maximizar a aeração), e uma série de pás impulsoras e uma parede defletora que impede a passagem de fluidos mantêm a suspensão bacteriana sob agitação. O oxigênio não é muito solúvel em água, sendo difícil manter a suspensão bacteriana bem aerada. Muitos projetos altamente sofisticados vêm sendo desenvolvidos para atingir uma eficiência máxima de aeração e outras necessidades para o crescimento, incluindo a formulação do meio. O grande valor dos produtos de micro-organismos geneticamente modificados e células eucarióticas estimula o desenvolvimento de novos tipos de biorreatores e controles computadorizados para eles.

Alguns biorreatores são bastante grandes, comportando até 500.000 L. Quando o produto é retirado ao final da fermentação, o processo é conhecido como *produção de lote*. Existem outros projetos de fermentadores. Para o *fluxo de produção contínua*, no qual

(a) Secção de um biorreator de agitação contínua.

(b) Um tanque biorreator à esquerda.

Figura 28.10 **Biorreatores para fermentações industriais.**

P **Identifique uma diferença essencial entre o biorreator ilustrado e uma dorna para a produção de cerveja.**

os substratos (em geral uma fonte de carbono) são continuamente introduzidos e passam por enzimas imobilizadas ou por uma cultura de células em crescimento, o meio gasto e o produto desejado são removidos constantemente.

De maneira geral, os micro-organismos na fermentação industrial produzem tanto metabólitos primários, como o etanol, quanto metabólitos secundários, como as penicilinas. Um **metabólito primário** é formado praticamente ao mesmo tempo que as novas células, e a curva de produção acompanha a curva de crescimento celular quase em paralelo, com um atraso mínimo (**Figura 28.11a**). **Metabólitos secundários** não são produzidos até que o micro-organismo tenha completado toda sua fase de crescimento logarítmico, conhecida como **trofofase**, e tenha entrado na fase estacionária do ciclo de crescimento (**Figura 28.11b**). O período seguinte, durante o qual a maioria dos metabólitos secundários é produzida, é denominado **idiofase**. O metabólito secundário pode ser uma conversão microbiana do metabólito primário. Por outro lado, pode ser um produto metabólico do meio original de crescimento que o micro-organismo produz somente depois que um número considerável de células e metabólitos primários tenha sido acumulado.

A melhoria de linhagens também é uma atividade em desenvolvimento na microbiologia industrial. (Uma **linhagem** microbiana difere fisiologicamente de maneira significante. Por exemplo, ela tem uma enzima que realiza algumas funções adicionais ou não possui essa habilidade, porém essa não é uma diferença suficiente para mudar sua identidade de espécie.) Um exemplo bem conhecido é o fungo utilizado para a produção de penicilina. A cultura original de *Penicillium* não produz penicilina em quantidade suficiente para uso comercial. Uma cultura mais eficiente foi isolada de um melão cantalupo mofado de um supermercado em Peoria, no estado norte-americano do Illinois. Essa linhagem foi tratada de várias formas, com luz UV, raios X e nitrogênio mostarda (um agente químico mutagênico). A seleção de mutantes, incluindo alguns que surgiram de modo espontâneo, rapidamente aumentou a taxa de produção em um fator maior que 100. Hoje, o fungo original produtor de penicilina produz não apenas 5 mg/L, mas 60.000 mg/L. Melhorias nas técnicas de fermentação chegaram a quase triplicar esse rendimento. Um exemplo de uma linhagem desenvolvida pelo enriquecimento e pela seleção é descrito no quadro da página 801.

Enzimas imobilizadas e micro-organismos

Em muitos casos, os micro-organismos são considerados pacotes de enzimas. As indústrias estão aumentando o uso de enzimas livres isoladas de micro-organismos para fabricar vários produtos, como xaropes com alto teor de frutose, papel e têxteis. A demanda para tais enzimas é alta porque elas são específicas e não ge-

(a) Um metabólito primário, como o etanol da levedura, tem uma curva de produção que está ligeiramente atrás da linha que indica crescimento celular.

(b) Um metabólito secundário, como a penicilina dos fungos, começa a ser produzido somente após a fase de crescimento logarítmico da célula (trofofase) ser completada. A produção principal de metabólitos secundários ocorre durante a fase estacionária do crescimento celular (idiofase).

Figura 28.11 **Fermentação primária e secundária.**

P **Qual é a origem de um metabólito secundário?**

ram produtos residuais caros ou tóxicos. Além disso, diferente dos processos químicos tradicionais que requerem calor ou ácido, as enzimas atuam sob condições moderadas e são seguras e biodegradáveis. Para a maioria dos propósitos industriais, as enzimas devem estar imobilizadas na superfície de algum suporte sólido ou então ser manipuladas para que possam converter um fluxo contínuo de substrato para produzir sem que ocorram perdas.

Técnicas de fluxo contínuo também são adaptadas para células vivas íntegras e às vezes para células mortas (**Figura 28.12**). Sistemas de células íntegras são difíceis de aerar e não possuem a especificidade de uma enzima imobilizada. Entretanto, células íntegras são vantajosas se o processo requer uma série de etapas que podem ser realizadas por uma enzima do micro-organismo. Elas também apresentam a vantagem de permitir os processos de fluxo contínuo com grandes populações de células operando em altas taxas de reação. Células imobilizadas, que em geral estão ancoradas a pequenas esferas ou fibras microscópicas, atualmente são usadas na fabricação de xaropes com alto teor de frutose, ácido aspártico e vários outros produtos de biotecnologia.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Os reatores são desenvolvidos para funcionar aeróbica ou anaerobicamente? **28-4**
- ✓ A penicilina é produzida em maior quantidade depois da trofofase da fermentação. Isso faz com que ela seja um metabólito primário ou secundário? **28-5**

Produtos industriais

Como mencionado anteriormente, a fabricação do queijo produz um resíduo orgânico chamado de soro, que deve ser descartado no esgoto ou seco e queimado como resíduo sólido. Esses dois processos são dispendiosos e ecologicamente problemáticos. Entretanto, os microbiologistas descobriram uma aplicação alternativa para o soro, como discutido no quadro da página 801. Dessa forma, eles estão criando novos usos para produtos antigos e gerando novos produtos. Nesta seção, discutiremos alguns dos produtos microbia-

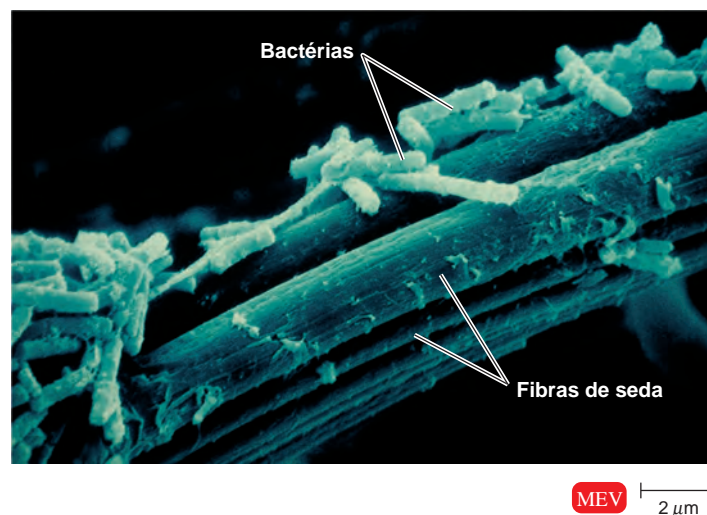



Figura 28.12 **Células imobilizadas.** Em alguns processos industriais, as células são imobilizadas em superfícies como as fibras de seda mostradas aqui. O substrato flui pelas células imobilizadas.

P **Como este processo assemelha-se à ação de um filtro bacteriano em uma estação de tratamento de esgoto?**

nos comerciais mais importantes e o crescimento da indústria de energia alternativa.

Aminoácidos

Os aminoácidos tornaram-se o principal produto industrial de micro-organismos. Por exemplo, mais de 600 mil toneladas de *ácido glutâmico* (L-glutamato), utilizado para fazer o realçador de sabor glutamato de sódio, são produzidas todos os anos. Certos aminoácidos, como a *lisina* e a *metionina*, não podem ser sintetizados por animais e estão presentes somente em baixos níveis em uma dieta normal. Entretanto, a síntese comercial de lisina e alguns outros aminoácidos essenciais como suplemento alimentar na forma de cereais é uma indústria importante. Mais de 70 mil toneladas de lisina e metionina são produzidas todos os anos.

Dois aminoácidos sintetizados microbiologicamente, a *fenilalanina* e o *ácido aspártico* (L-aspartato), tornaram-se importantes como ingredientes no adoçante livre de açúcar aspartame (NutraSweet). Cerca de 3.000 a 4.000 toneladas de cada um desses aminoácidos são produzidas anualmente nos Estados Unidos.

Na natureza, os micro-organismos raramente produzem aminoácidos que excedem suas próprias necessidades porque a inibição por retroalimentação previne o desperdício da produção de metabólitos primários (veja o Capítulo 5, página 120). A produção microbiana comercial de aminoácidos depende de mutantes especialmente selecionados e, algumas vezes, de manipulações engenhosas das vias metabólicas. Por exemplo, em aplicações em que somente o L-isômero de um aminoácido é desejado, a produção microbiana que forma somente o L-isômero tem uma vantagem sobre a produção química, que forma tanto o **D-isômero** quanto o **L-isômero** (veja a Figura 2.13, página 43).

Ácido cítrico

O *ácido cítrico* é um constituinte de frutas cítricas, como as laranjas e os limões, e por muito tempo essa foi sua única fonte industrial. Entretanto, nos últimos 100 anos, o ácido cítrico foi identificado como um produto do metabolismo de fungos. Essa descoberta foi utilizada pela primeira vez como um processo industrial quando a Primeira Guerra Mundial interferiu no cultivo do limão italiano. O ácido cítrico tem uma grande variedade de usos, além de dar acidez e sabor aos alimentos. Ele é um antioxidante e é usado para ajustar o pH em muitos alimentos, sendo utilizado com frequência em laticínios como emulsificador. Mais de 550 mil toneladas de ácido cítrico são produzidas todos os anos nos Estados Unidos. A maior parte é produzida por um fungo, *Aspergillus niger*, utilizando melado como substrato.

Enzimas

As enzimas são amplamente utilizadas em diferentes indústrias. Por exemplo, as *amilases* são usadas na produção de xaropes a partir de amido de milho, na produção de papéis especiais (como o revestimento liso desta página) e na produção de glicose a partir de amido. A produção microbiológica de amilase é considerada a primeira patente de biotecnologia expedida nos Estados Unidos, a qual foi concedida ao cientista japonês Jokichi Takamine. O processo básico pelo qual os mofos eram usados para fazer uma preparação enzimática conhecida como **koji** já era utilizado há séculos no Japão para fabricar produtos fermentados à base de soja. Koji é uma abreviação da palavra japonesa que significa "florescer do mofo", significando a infiltração de um substrato de cereal, como arroz ou uma mistura de trigo e soja, por um fungo filamentoso (*Aspergillus*). Inicialmente, as amilases no koji transformam o amido em açúcares, mas os preparados de koji também contêm enzimas proteolíticas que convertem a proteína da soja em uma forma mais digerível e saborosa. Esta é a base das fermentações de soja, que é o principal componente da dieta japonesa, como o *molho de soja* e o *missô* (uma pasta de soja fermentada com sabor de carne). O *saquê,* o conhecido vinho de arroz japonês, faz uso das amilases do koji para transformar os carboidratos do arroz em uma forma que as leveduras possam usar para produzir álcool. Isso equivale aproximadamente ao malte Barley (página 800) usado na produção de cerveja.

A *glicose-isomerase* é uma enzima importante; ela converte a glicose que a amilase forma a partir do amido em frutose, usada na substituição da sacarose como adoçante em muitos alimentos. Provavelmente a metade dos pães fabricados nos Estados Unidos seja produzida com o auxílio das *proteases*, as quais ajustam a quantidade de glúten (proteína) no trigo, de maneira que os pães fabricados apresentam melhor qualidade ou são feitos de modo uniforme. Outras enzimas proteolíticas são utilizadas como amaciantes de carne ou em detergentes como um aditivo para remover manchas de origem proteica. Cerca de um terço de toda a produção industrial de enzimas tem essa finalidade. A *renina* é uma enzima utilizada para formar o coalho no leite, sendo normalmente produzida em escala comercial por fungos e mais recentemente por bactérias geneticamente modificadas. Um exemplo de um produto do vestuário popular que utiliza enzimas é descrito no quadro do Capítulo 1, página 3.

Vitaminas

As vitaminas são vendidas em grandes quantidades combinadas na forma de pastilhas e são utilizadas como suplementos alimentares. Os micro-organismos podem fornecer uma fonte de baixo custo de algumas vitaminas. A *vitamina* B_{12} é produzida por espécies de *Pseudomonas* e *Propionibacterium.* A *riboflavina* (B_2) é outra vitamina produzida por fermentação, principalmente por fungos como *Ashbya gossypii.* A *vitamina C* (ácido ascórbico) é produzida em uma taxa de 20.000 toneladas por ano por uma complexa modificação da glicose por espécies de *Acetobacter.*

Produtos farmacêuticos

A microbiologia farmacêutica moderna foi desenvolvida depois da Segunda Guerra Mundial, com a introdução da produção de antibióticos.

Todos os antibióticos eram originalmente produtos do metabolismo microbiano. Muitos ainda são produzidos por fermentações microbianas, e o trabalho continua na seleção de mutantes mais produtivos por manipulações nutricionais e genéticas. Pelo menos 6.000 antibióticos foram catalogados. Um organismo, o *Streptomyces hygroscopius*, possui linhagens diferentes que produzem quase 200 antibióticos diferentes. Os antibióticos são comumente produzidos na indústria pela inoculação de uma solução de meio de crescimento com esporos dos fungos apropriados ou estreptomicetos, seguida de aeração vigorosa.

As vacinas são um produto da microbiologia industrial. Muitas vacinas antivirais são produzidas em massa em ovos de galinha ou

CH₂OH C=O OH O Esterol — Espécies de *Streptomyces* → HO CH₂OH C=O OH O Esteroide

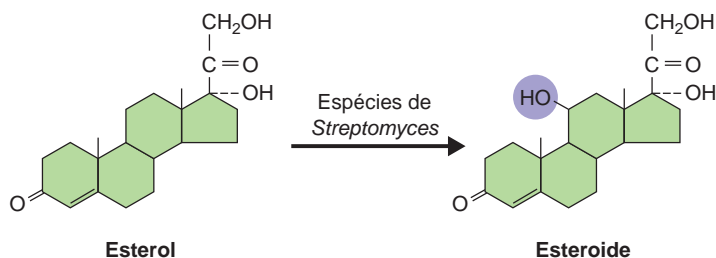



Figura 28.13 **A produção de esteroides.** Aqui é mostrada a conversão de um componente precursor como o esterol em um esteroide por *Streptomyces*. A adição de um grupo hidroxila ao carbono de número 11 (destacado em roxo no esteroide) requer mais de 30 etapas por métodos químicos, mas o micro-organismo pode adicioná-lo em apenas uma etapa.

P Dê o nome de um produto comercial que é um esteroide.

cultura de células. A produção de vacinas contra as doenças bacterianas normalmente necessita do crescimento de grandes quantidades de bactérias. A tecnologia do DNA recombinante é cada vez mais importante no desenvolvimento e na produção de vacinas de subunidade (veja o Capítulo 18, página 502).

Os *esteroides* são um importante grupo de substâncias químicas que incluem a *cortisona*, que é utilizada como droga anti-inflamatória, e os *estrógenos* e as *progesteronas,* que são utilizados como contraceptivos orais. Recuperar esteroides de fontes animais ou sintetizá-los quimicamente é difícil, mas os micro-organismos podem sintetizá-los a partir de esterois ou compostos relacionados, facilmente obtidos. Por exemplo, a **Figura 28.13** ilustra a conversão de um esterol em um esteroide de valor comercial.

Extração de cobre por lixiviação

O *Thiobacillus ferrooxidans* é utilizado na recuperação de classes de minério de cobre não lucrativas, que algumas vezes contêm somente 0,1% de cobre. Pelo menos 25% do cobre no mundo são produzidos dessa forma. As bactérias *Thiobacillus* retiram sua energia de oxidação da forma reduzida do ferro (Fe^{2+}), o sulfeto ferroso, para uma forma oxidada (Fe^{3+}), o sulfato férrico. O ácido sulfúrico (H_2SO_4) também é um produto da reação. A solução ácida de Fe^{3+} contendo água é aplicada por borrifadores, e ocorre a percolação pelo minério (**Figura 28.14**). O íon ferroso, Fe^{2+}, e o *T. ferrooxidans* normalmente estão presentes no minério e continuam contribuindo para as reações. O Fe^{3+} na água dos borrifadores reage com o cobre insolúvel (Cu^{+}) no *sulfeto de cobre* no minério para formar o cobre solúvel (Cu^{2+}), que assume a forma de *sulfatos de cobre*. Para manter um pH bastante baixo, mais ácido sulfúrico pode ser adicionado. O sulfato de cobre desce para os tanques de coleta, onde entra em contato com fragmentos de ferro metálico. Os sulfatos de cobre reagem quimicamente com o ferro e se precipitam como cobre metálico (Cu^{0}). Nessa reação, o ferro metálico (Fe^{0}) é convertido em íon ferroso (Fe^{2+}), que é reciclado para um tanque de oxidação aerado, onde as bactérias *Thiobacillus* o utilizam como energia para reiniciar o ciclo. Esse processo, embora bastante demorado, é econômico e pode recuperar até 70% do cobre no minério. Minérios de urânio, ouro e cobalto são processados de maneira similar. O processo completo assemelha-se a um biorreator de fluxo contínuo.

Micro-organismos como produtos industriais

Os micro-organismos, por si mesmos, podem constituir um produto industrial. A *levedura do pão* (*S. cerevisiae*) é produzida em grandes tanques de fermentação aerados. Ao final da fermentação, o conteúdo dos tanques é de cerca de 4% de massa de leveduras. As células são coletadas por centrifugação contínua e são prensadas em pacotes vendidos para preparação de bolos caseiros. As padarias compram as leveduras por atacado em caixas de aproximadamente 23 kg.

Outros micro-organismos importantes vendidos industrialmente são as bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Esses micro-organismos normalmente são misturados com musgo de turfa para preservar a umidade; o fazendeiro mistura o musgo de turfa e o inóculo bacteriano com as sementes de leguminosas para garantir a infecção da planta com linhagens fixadoras de nitrogênio (veja o Capítulo 27). Por muitos anos, os jardineiros utilizaram o patógeno de insetos *Bacillus thuringiensis* para controlar a larva de insetos comedora de folhas. Essa bactéria produz uma toxina (toxina Bt) que mata algumas traças, besouros e moscas quando ingerida por suas larvas. A subespécie *israelensis* de *B. thuringiensis* produz a toxina Bt especialmente ativa contra larvas de mosquitos e é muito utilizada nos programas de controle municipais. Produtos comerciais contendo a toxina Bt e endosporos de *B. thuringiensis* estão disponíveis em quase todas as lojas de acessórios para jardinagem. Para um exemplo de micro-organismos que estão sendo desenvolvidos para detectar produtos químicos, veja o quadro da página 801.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Há um tempo, o ácido cítrico era extraído em escala industrial de limões e outras frutas cítricas. Qual organismo é usado para produzi-lo hoje? **28-6**

Fontes alternativas de energia que utilizam micro-organismos

À medida que nossas fontes de combustíveis fósseis diminuem ou tornam-se mais caras, o interesse no uso de fontes de energia renováveis aumenta. A **biomassa,** a principal dessas fontes, é a matéria orgânica total produzida por organismos vivos, incluindo culturas, árvores e resíduos municipais. Os micro-organismos podem ser usados para a **bioconversão**, o processo de converter biomassa em fontes de energia alternativa. A bioconversão também pode diminuir a quantidade de resíduo material que necessita de descarte.

O **metano** é uma das mais convenientes fontes de energia produzidas pela bioconversão. Muitas comunidades produzem quantidades úteis de metano a partir de resíduos de aterros (**Figura 28.15**). Grandes lotes de alimentação de gado devem desfazer-se de imensas quantidades de esterco animal, e muitos esforços têm sido empregados na elaboração de métodos práticos para a produção de metano a partir desses resíduos. O maior problema com qualquer projeto de produção de metano em larga escala é

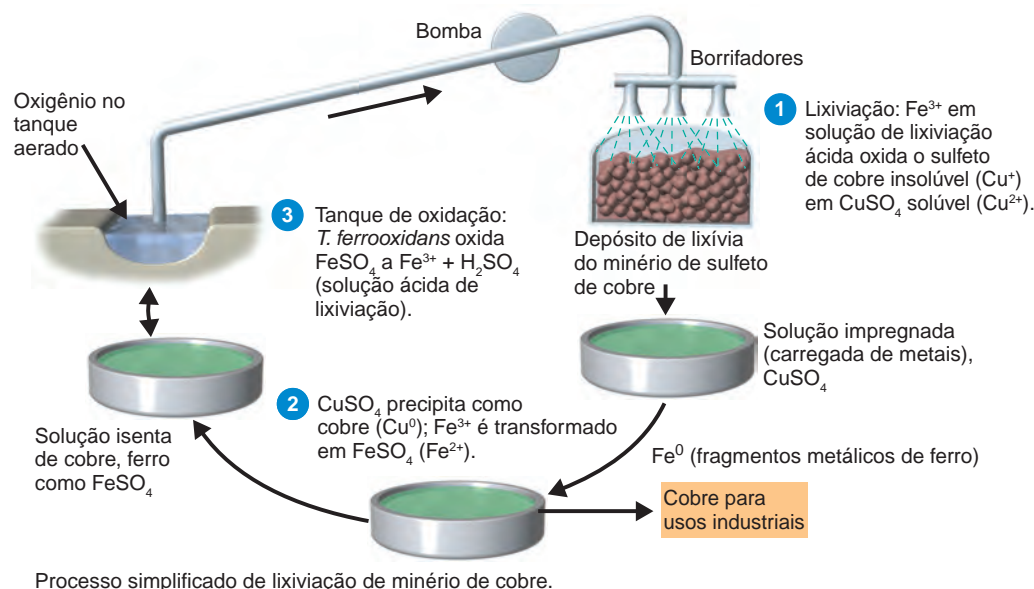



Figura 28.14 Lixiviação microbiológica de minério de cobre. A química do processo é muito mais complicada do que mostrado aqui. Essencialmente, as bactérias *Thiobacillus ferrooxidans* são usadas em um processo químico/biológico que transforma o cobre insolúvel no minério em cobre solúvel, que é lixiviado e precipitado como cobre metálico. As soluções recirculam continuamente.

P Cite outro metal recuperado por um processo similar.

a necessidade de concentrar de maneira econômica o material da biomassa espalhado. Se pudessem ser economicamente concentrados, os resíduos animais e humanos dos Estados Unidos poderiam produzir muito da energia atualmente fornecida por combustíveis fósseis e gás natural.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Os aterros são locais onde ocorre uma importante forma de bioconversão – qual é o produto? **28-7**

Biocombustíveis

À medida que o abastecimento de combustíveis fósseis com base em petróleo torna-se mais caro, e algumas vezes incerto, o interesse na substituição por combustíveis renováveis, os **biocombustíveis**, tem aumentado. O interesse inicial centrou-se no **etanol**, o qual já é amplamente utilizado como um suplemento para a gasolina (90% gasolina + 10% etanol), e a tecnologia é bem estabelecida. O Brasil, por exemplo, produz uma grande quantidade de etanol a partir da cana-de-açúcar, cerca de um terço do combustível para transporte. Nos Estados Unidos, um número limitado de automóveis é adaptado para usar E85 (15% gasolina + 85% etanol). O etanol tem, entretanto, alguns problemas: ele não pode ser transportado por gasodutos convencionais (por absorver água muito facilmente) e tem 30% de perda de energia em relação à gasolina. Também, produzir etanol a partir do milho cria pressões no suprimento e nos preços de um gênero alimentício de valor comercial.

Figura 28.15 Produção de metano a partir de resíduos sólidos em aterros. O metano acumula-se nos aterros e pode ser usado para energia. Esta instalação perto de Los Angeles tem 50 microturbinas que geram eletricidade a partir do metano produzido em um aterro. Logo atrás das microturbinas estão cinco pilhas de queima de gás que encobrem as chamas do excesso de metano queimado – uma exigência para que as aeronaves não confundam isso com a iluminação do aeroporto.

P Como o metano é produzido em um aterro?

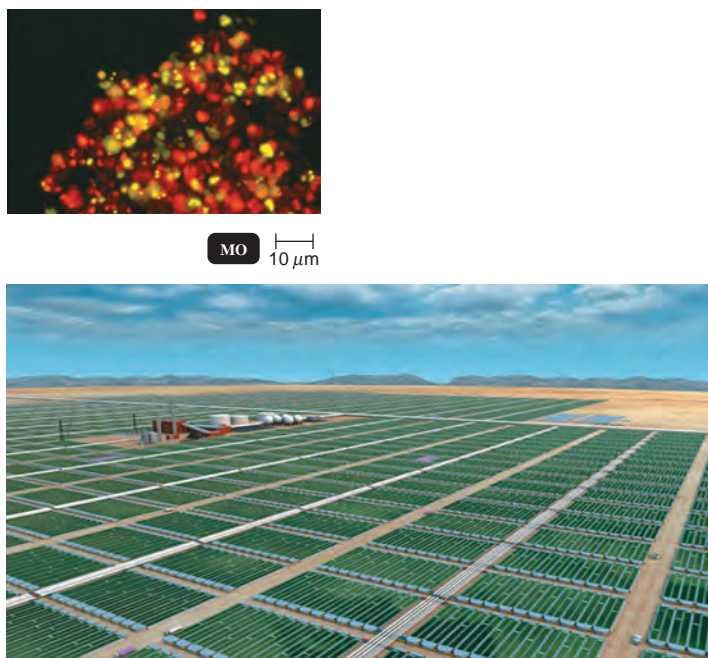



Figura 28.16 **Biorreatores de algas.** Uma concepção artística de um campo de biorreatores de algas que poderiam produzir biocombustíveis em escala industrial. Micrografia: esta cultura manchada de algas verdes mostra gotículas de óleo como áreas amarelas; as áreas vermelhas indicam clorofila.

P **Os campos de produção para os biorreatores de algas seriam encontrados no Arizona ou em Iowa?**

Estes inconvenientes têm aumentado o interesse em biocombustíveis derivados de materiais celulolíticos, como espiga de milho, madeira e resíduo de papel, e a partir de culturas não alimentares, como a grama do tipo *switchgrass* – que constituiu as pradarias do Midwest. Tais gramas são perenes e requerem um pouco mais de atenção na colheita. A tecnologia para a produção de etanol a partir de celulose é pouco conhecida e seu custo é mais alto do que a produção a partir de milho e cana-de-açúcar. As moléculas de açúcar que compõem a celulose devem ser quebradas e separadas por enzimas – uma possibilidade que é o foco de intensificação das pesquisas. As fontes dessas enzimas podem ser os cupins ou os fungos que atacaram as barracas de algodão do exército na Segunda Guerra Mundial. Fontes de *celulose* também contêm quantidades significativas de um componente similar, a *hemicelulose*, que vai requerer organismos capazes de digeri-la – provavelmente micro-organismos geneticamente modificados. O componente da celulose resistente à digestão, a *lignina*, poderia ser queimado, gerando calor para as etapas iniciais do processo fermentativo.

Alcoóis "superiores" com longas cadeias de carbono, e especialmente alcoóis "ramificados", podem apresentar vantagens sobre o etanol convencional. Eles podem ter uma baixa capacidade de absorção de água e um alto conteúdo energético. Atualmente, há pelo menos uma bactéria geneticamente modificada capaz de produzir várias formas de alcoóis superiores a partir de glicose. Alcoóis superiores também podem ser unidos por processamento químico a partir de hidrocarbonetos de cadeia curta.

Um organismo teoricamente atraente na produção de biocombustíveis é a alga. As algas oferecem diversas vantagens; por exemplo, elas não ocupam terras necessárias para a produção de alimentos. Além disso, produzem 40 vezes a energia por acre em relação à produção do milho – e a terra na qual as algas crescem pode ser improdutiva, desde que tenha luz solar abundante (**Figura 28.16**). Os sítios de produção experimental de algas têm utilizado as emissões de dióxido de carbono das usinas para acelerar o crescimento. As algas podem ser colhidas quase que diariamente. O óleo retirado delas pode ser transformado em biodiesel e possivelmente combustível para motor a jato: algas típicas produzem 20% do seu peso em óleo e algumas até mais. Depois da extração do óleo, o remanescente, rico em carboidratos e proteínas, pode ser usado para produzir etanol ou como alimento para animais.

O hidrogênio é um forte candidato para substituir os combustíveis fósseis, especialmente se puder ser produzido pela hidrólise da água. Ele pode ser usado em células combustíveis para gerar eletricidade e ser queimado para gerar energia, pois não produz resíduos prejudiciais. A maioria das pesquisas na produção de hidrogênio tem o foco nos métodos físicos e químicos, mas existe também a possibilidade da utilização de bactérias ou algas para produzir hidrogênio a partir da fermentação de vários produtos residuais ou por alterações da fotossíntese.

As metodologias destacadas levarão tempo para desenvolver seu potencial. Atualmente, a ciência está nas fases iniciais do processo de aprendizagem, nas quais todas as novas tecnologias se baseiam.

TESTE SEU CONHECIMENTO

✓ Como os micro-organismos podem fornecer combustíveis para carros e eletricidade? **28-8**

Microbiologia industrial e o futuro

Os micro-organismos têm sido extremamente úteis para a humanidade, mesmo quando sua existência era desconhecida. Eles irão continuar sendo parte essencial de muitas tecnologias de processamento de alimentos. O desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante intensificou o interesse na microbiologia industrial, expandindo o potencial para novos produtos e aplicações (veja o quadro no Capítulo 1, página 3). À medida que o suprimento de energia fóssil torna-se mais escasso, o interesse em fontes renováveis de energia, como o hidrogênio e o etanol, aumenta. O uso de micro-organismos especializados para a produção em escala industrial provavelmente se tornará cada vez mais importante. À medida que novas aplicações biotecnológicas e produtos entram no mercado, irão afetar nossas vidas e nosso bem-estar de modo inimaginável.

RESUMO PARA ESTUDO

Microbiologia dos alimentos (p. 794-800)

1. Os primeiros métodos para a conservação dos alimentos foram secagem, adição de sal ou açúcar e fermentação.

Alimentos e doenças (p. 794)

2. A segurança dos alimentos é monitorada pela FDA, pelo USDA e também pelo uso do sistema APPCC.

Alimentos enlatados industrialmente (p. 794, 795)

3. A esterilização comercial de alimentos é realizada por vapor sob pressão em uma retorta.
4. A esterilização comercial aquece os alimentos enlatados a uma temperatura mínima necessária para destruir os endosporos de *Clostridium botulinum*, diminuindo a alteração do alimento.
5. O processo de esterilização comercial utiliza calor suficiente para reduzir a população de *C. botulinum* por 12 ciclos logarítmicos (tratamento 12D).
6. Os endosporos de termófilos podem sobreviver à esterilização comercial.
7. Alimentos enlatados estocados acima de 45ºC podem ser estragados por anaeróbicos termofílicos.
8. A deterioração anaeróbica termofílica algumas vezes é acompanhada de produção de gás; se não houver formação de gás, a deterioração é denominada deterioração por acidez plana.
9. A deterioração por bactérias mesofílicas geralmente se deve a procedimentos impróprios de aquecimento ou por vazamentos.
10. Alimentos ácidos podem ser preservados pelo aquecimento a 100ºC, pois os micro-organismos que sobrevivem não são capazes de crescer em pH baixo.
11. *Byssochlamys, Aspergillus* e *Bacillus coagulans* são micro-organismos ácido-tolerantes e resistentes ao calor que podem estragar alimentos ácidos.

Empacotamento asséptico (p. 795, 796)

12. Materiais pré-esterilizados são montados em pacotes e preenchidos assepticamente com alimentos líquidos esterilizados pelo calor.

Radiação e preservação de alimentos industriais (p. 796, 797)

13. Radiação gama e raio X podem ser utilizados para esterilizar alimentos, matar insetos e vermes parasitas e prevenir o brotamento de frutas e vegetais.

Preservação de alimentos por alta pressão (p. 797)

14. Água pressurizada é utilizada para matar bactérias nas frutas e nas carnes.

Papel dos micro-organismos na produção de alimentos (p. 797-800)

Queijo (p. 798, 799)

15. A proteína caseína do leite coagula por causa da ação de bactérias do ácido lático ou da enzima renina.
16. O queijo é o coalho separado da porção líquida do leite, denominada soro.
17. Os queijos firmes são produzidos pelas bactérias do ácido lático que crescem no interior do coalho.
18. O crescimento de bactérias no queijo é chamado de maturação.
19. Queijos de consistência semimacia são maturados pelo crescimento de bactérias na superfície; queijos macios são maturados pelo crescimento de *Penicillium* na superfície.

Outros produtos lácteos (p. 799)

20. O leitelho antigamente era produzido pelo crescimento de bactérias do ácido lático durante o processo de fabricação da manteiga.
21. O leitelho comercial é feito deixando as bactérias do ácido lático crescerem no leite desnatado por 12 horas.
22. Creme azedo, iogurte, kefir e kumiss são produzidos por lactobacilos, estreptococos ou leveduras que crescem em leite com baixo teor de gordura.

Outras fermentações (p. 799, 800)

23. Os açúcares da massa do pão são fermentados pelas leveduras a etanol e CO_2; o CO_2 faz o pão crescer.
24. Chucrute, picles, azeitonas, molho de soja e mesmo o cacau e o café são produtos de fermentação microbiana.

Bebidas alcoólicas e vinagre (p. 800)

25. Carboidratos obtidos de cereais, batatas ou melado são fermentados por leveduras para produzir etanol na fabricação de cerveja, ale, saquê e bebidas alcoólicas destiladas.
26. Os açúcares em frutas como uvas são fermentados pelas leveduras para produzir vinhos.
27. Na fabricação dos vinhos, as bactérias do ácido lático convertem o ácido málico em ácido lático na fermentação maloláctica.
28. *Acetobacter* e *Gluconobacter* oxidam o etanol do vinho em ácido acético (vinagre).

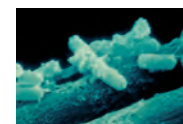
Microbiologia industrial (p. 800-808)

1. Os micro-organismos produzem alcoóis e acetona, que são utilizados em processos industriais.
2. A microbiologia industrial tem sido revolucionada pela habilidade das células geneticamente modificadas de gerar muitos produtos novos.
3. A biotecnologia é uma forma de se obter produtos comerciais utilizando organismos vivos.

Tecnologia das fermentações (p. 802-804)

4. O crescimento de células em larga escala é denominado fermentação industrial.
5. A fermentação industrial é realizada em biorreatores, que controlam a aeração, o pH e a temperatura.
6. Metabólitos primários como o etanol são formados assim que as células crescem (durante a trofofase).
7. Metabólitos secundários como as penicilinas são produzidos durante a fase estacionária (idiofase).
8. Linhagens mutantes que produzem um produto específico podem ser selecionadas.

Enzimas imobilizadas e micro-organismos (p. 803, 804)

9. Enzimas ou células íntegras podem estar ligadas a esferas sólidas ou fibras. Quando o substrato passa sobre a superfície, reações enzimáticas o modificam para o produto desejado.

10. Eles são utilizados para a fabricação de papéis, produtos têxteis e couro e são ambientalmente seguros.

Produtos industriais (p. 804-806)

11. A maior parte dos aminoácidos utilizados em alimentos e na medicina é produzida por bactérias.
12. A produção microbiana de aminoácidos pode ser utilizada para produzir L-isômeros; a produção química resulta em D e L-isômeros.
13. Lisina e ácido glutâmico são produzidos por *Corynebacterium glutamicum*.
14. O ácido cítrico, utilizado em alimentos, é produzido pelo *Aspergillus niger*.
15. As enzimas utilizadas na fabricação de alimentos, medicamentos e outros gêneros são produzidas por micro-organismos.
16. Algumas vitaminas usadas como suplementos alimentares são produzidas por micro-organismos.
17. Vacinas, antibióticos e esteroides são produtos do crescimento microbiano.
18. As atividades metabólicas de *Thiobacillus ferrooxidans* podem ser usadas para recuperar minérios de urânio e cobre.
19. Leveduras são cultivadas para a fabricação de vinhos e pães; outros micro-organismos (*Rhizobium, Bradyrhizobium* e *Bacillus thuringiensis*) são cultivados para o uso agrícola.

Fontes alternativas de energia que utilizam micro-organismos (p. 806, 807)

20. Resíduos orgânicos, denominados biomassa, podem ser convertidos pelos micro-organismos no combustível alternativo metano, um processo denominado bioconversão.
21. Combustíveis produzidos por fermentação microbiana são metano, etanol e hidrogênio.

Biocombustíveis (p. 807, 808)

22. Biocombustíveis incluem alcoóis e hidrogênio (a partir de fermentação microbiana) e óleos (a partir de algas).

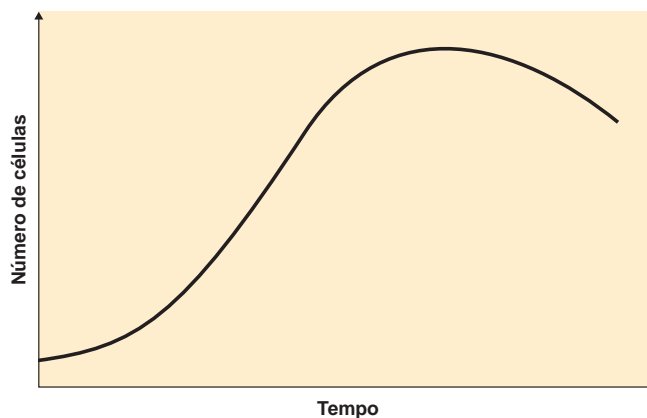
Microbiologia industrial e o futuro (p. 808)

23. A tecnologia do DNA recombinante continuará melhorando a habilidade da microbiologia industrial de produzir medicamentos e outros produtos.

QUESTÕES PARA ESTUDO

As respostas para as questões de revisão e múltipla escolha podem ser encontradas na seção *Respostas* deste livro.

Revisão

1. O que é microbiologia industrial? Por que ela é importante?
2. Como a esterilização comercial difere dos procedimentos de esterilização utilizados em um hospital ou laboratório?
3. Por que uma lata de amoras preservada por esterilização comercial é comumente aquecida a 100ºC em vez de no mínimo 116ºC?
4. Descreva em linhas gerais as etapas da produção de queijos e compare a produção de queijos de consistência dura e mole.
5. A cerveja é feita com água, malte e leveduras; o lúpulo é adicionado para dar sabor. Qual é a função da água, do malte e das leveduras? O que é malte?
6. Por que um biorreator é melhor do que um grande frasco para a produção industrial de antibióticos?
7. A produção de papel inclui o uso de alvejantes e cola feita com formaldeído. A enzima microbiana xilanase branqueia o papel pela digestão das ligninas escuras. A oxidase faz com que as fibras fiquem juntas, e a celulase vai remover a tinta. Liste três vantagens do uso dessas enzimas microbianas sobre os métodos químicos tradicionais para a produção de papel.
8. Descreva um exemplo de bioconversão. Qual processo metabólico pode resultar em combustíveis?
9. **DESENHE** Marque a trofofase e a idiofase neste gráfico. Indique quando os metabólitos primários e secundários são formados.

Múltipla escolha

1. Os alimentos empacotados em plástico para aquecimento em micro-ondas são:
   a. Desidratados.
   b. Liofilizados.
   c. Empacotados assepticamente.
   d. Esterilizados comercialmente.
   e. Autoclavados.
2. *Acetobacter* é necessária para somente uma das etapas da produção da vitamina C. A maneira mais fácil de realizar essa etapa seria:
   a. Adicionar substrato e *Acetobacter* ao tubo de ensaio.

b. Fixar *Acetobacter* em uma superfície e passar o substrato sobre a superfície.
c. Adicionar substrato e *Acetobacter* a um reator.
d. Encontrar uma alternativa para esta etapa.
e. Nenhuma das alternativas.

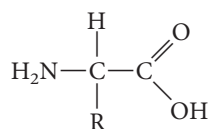
Utilize as opções seguintes para responder as questões de 3 a 5:

a. *Bacillus coagulans.*
b. *Byssochlamys.*
c. Deterioração por acidez plana.
d. *Lactobacillus.*
e. Deterioração termofílica anaeróbica.

3. Deterioração de alimentos enlatados devido a processamento inadequado, acompanhada de produção de gás.
4. Deterioração de alimentos enlatados causada por *Geobacillus stearothermophilus*.
5. Fungo resistente ao calor que causa deterioração em alimentos ácidos.
6. O termo tratamento 12D refere-se:
   a. Ao tratamento por aquecimento suficiente para matar 12 bactérias.
   b. Ao uso de 12 tratamentos diferentes para preservar alimentos.
   c. A uma redução de 10^{12} endosporos de *C. botulinum.*
   d. A qualquer processo que destrua bactérias termofílicas.
7. Qual das seguintes opções *não* é um combustível produzido por micro-organismos?
   a. Óleo de algas.
   b. Etanol.
   c. Hidrogênio.
   d. Metano.
   e. Urânio.
8. Qual dos tipos de radiação é utilizado para preservar alimentos?
   a. Ionizante.
   b. Não ionizante.
   c. Ondas de rádio.
   d. Micro-ondas.
   e. Todas as alternativas.
9. Qual das seguintes reações é indesejada na produção de vinho?
   a. Sacarose → etanol.
   b. Etanol → ácido acético.
   c. Ácido málico → ácido lático.
   d. Glicose → ácido pirúvico.
10. Qual das seguintes reações é uma oxidação realizada por *Thiobacillus ferrooxidans*?
   a. $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$.
   b. $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$.
   c. $CuS \rightarrow CuSO_4$.
   d. $Fe^0 \rightarrow Cu^0$.
   e. Nenhuma das alternativas.

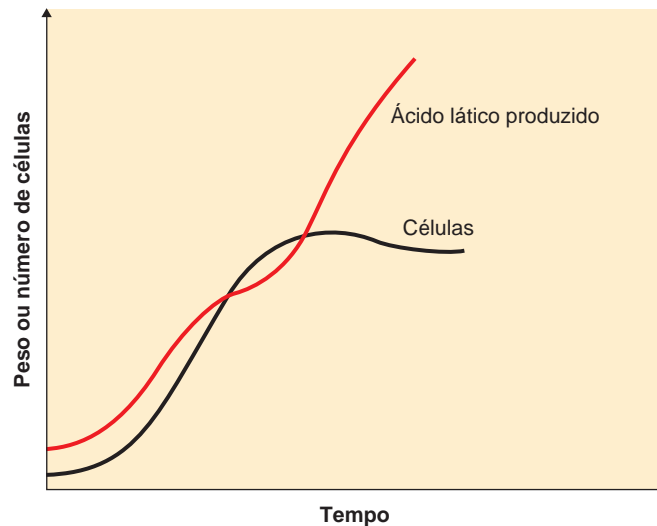
Pensamento crítico

1. Qual bactéria parece ser mais frequentemente utilizada na produção de alimentos? Proponha uma explicação para isso.
2. *Methylophilus methylotrophus* pode converter metano (CH_4) em proteínas. Os aminoácidos são representados por esta estrutura:

$$H_2N-\underset{R}{\overset{H}{C}}-C\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OH \end{matrix}$$

Faça um diagrama de uma via ilustrando a produção de pelo menos um aminoácido.

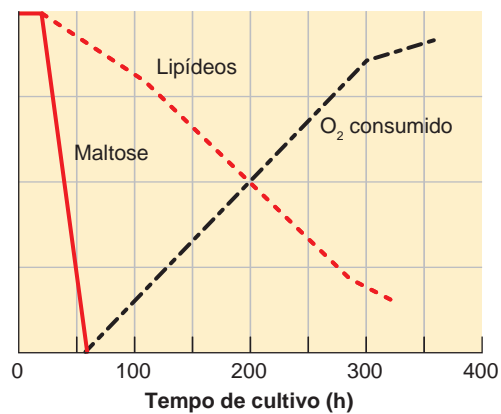
3. O jeans *stone-washed* é produzido com celulase. Como a celulase causa o efeito e a sensação da lavagem com pedras? Qual é a fonte de celulase?

Aplicações clínicas

1. Suponha que você esteja cultivando um micro-organismo que produz ácido lático suficiente para matá-lo em poucos dias.
   a. Como o uso de um biorreator o auxilia a manter a cultura por semanas ou meses? O gráfico a seguir mostra as condições do biorreator:

   b. Se o produto desejado for um metabólito secundário, quando você poderá começar a coletá-lo?
   c. Se o produto desejado for as próprias células e você espera manter uma cultura contínua, quando poderá começar a coleta?
2. Pesquisadores do CDC inocularam a cidra de maçã com 10^5 células/mL de *E. coli* O157:H7 para determinar o destino da bactéria na cidra (pH 3,7). Eles obtiveram os seguintes resultados:

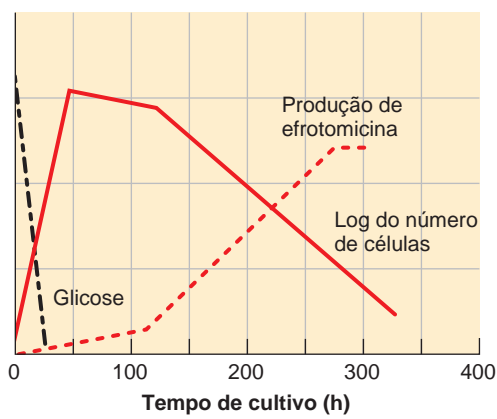
	Número de células de *E. coli* O157:H7/mL após 25 dias
Cidra de maçã a 25°C	10^4 (crescimento evidente de fungos por 10 dias)
Cidra de maçã com sorbato de potássio a 25°C	10^3
Cidra de maçã a 8°C	10^2

O que você pode concluir a partir desses dados? Qual doença é causada pela *E. coli* O157:H7? (*Dica*: veja o Capítulo 25.)

3. O antibiótico efrotomicina é produzido por *Streptomyces lactamdurans. S. lactamdurans* cresceu em 40.000 L de meio. O meio consiste em glicose, maltose, óleo de soja, $(NH_4)_2SO_4$, NaCl, KH_2PO_4 e Na_2HPO_4. A cultura foi aerada e mantida a 28ºC. Os resultados a seguir foram obtidos a partir de análises do meio de cultura durante o crescimento celular:

a. Sob quais condições a efrotomicina é mais produzida? Ela é um metabólito primário ou secundário?

b. Qual é usada primeiro, a maltose ou a glicose? Sugira uma razão para isso.

c. Qual a função de cada ingrediente no meio de crescimento? (*Dica:* veja o Capítulo 6.)

d. O que é *Streptomyces*? (*Dica:* veja o Capítulo 11.)

RESPOSTAS DAS QUESTÕES DE REVISÃO E MÚLTIPLA ESCOLHA

Capítulo 1

Revisão

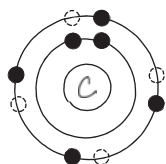
1. As pessoas acreditavam que os organismos vivos surgiam de matéria não viva por verem moscas surgindo do estrume e larvas surgindo de animais mortos, e por observarem micro-organismos em líquidos depois de um ou dois dias.
2. **a.** Certos micro-organismos causam doenças em insetos. Micro-organismos que matam insetos podem ser agentes de controle biológicos efetivos, pois são específicos para o controle da peste e não persistem no ambiente.
   b. Carbono, oxigênio, nitrogênio, enxofre e fósforo são requeridos por todos os organismos vivos. Os micro-organismos convertem esses elementos em formas que são úteis para outros organismos. Muitas bactérias decompõem materiais e liberam dióxido de carbono na atmosfera, o qual é utilizado pelas plantas. Algumas bactérias podem capturar o nitrogênio da atmosfera e convertê-lo em uma forma que pode ser utilizada por plantas e outros micro-organismos.
   c. Microbiota normal são os micro-organismos encontrados no interior e na superfície do corpo humano. Em geral não causam doença e podem ser benéficos.
   d. A matéria orgânica de esgotos é decomposta por bactérias em dióxido de carbono, nitratos, fosfatos, sulfato e outros compostos inorgânicos em unidades de tratamento de água através das plantas.
   e. Técnicas de DNA recombinante resultaram na utilização do gene na produção de insulina em bactérias. Elas podem produzir insulina humana a um baixo custo.
   f. Micro-organismos podem ser usados como vacinas. Alguns micróbios podem ser geneticamente modificados para produzir componentes de vacinas.
   g. Biofilmes são agregados de bactérias aderidas a uma superfície sólida.
3. **a.** 1, 3 **b.** 8 **c.** 1, 4, 5 **d.** 2 **e.** 5 **f.** 3 **g.** 4 **h.** 7
4. **a.** 7 **b.** 4 **c.** 3 **d.** 2 **e.** 6 **f.** 5 **g.** 1
5. **a.** 11 **b.** 14 **c.** 15 **d.** 17 **e.** 3 **f.** 9 **g.** 10 **h.** 2 **i.** 1 **j.** 12 **k.** 18 **l.** 4 **m.** 7 **n.** 5 **o.** 6 **p.** 8 **q.** 13 **r.** 16
6. *Erwinia amylovora* é a forma correta de escrever este nome científico. Nomes científicos podem derivar de nomes de cientistas. Neste caso, *Erwinia* é derivado de Erwin F. Smith, um patologista de plantas norte-americano. Nomes científicos também podem descrever o organismo, seu habitat ou seu nicho. *E. amylovora* é um patógeno de plantas (*amylo* = amido; *vora* = comer).
7. **a.** *B. thuringiensis* é vendido como inseticida biológico.
   b. *Saccharomyces* é uma levedura vendida para a produção de pães, vinhos e cerveja.
8.

Múltipla escolha

1. a
2. c
3. d
4. c
5. b
6. e
7. c
8. a
9. c
10. a

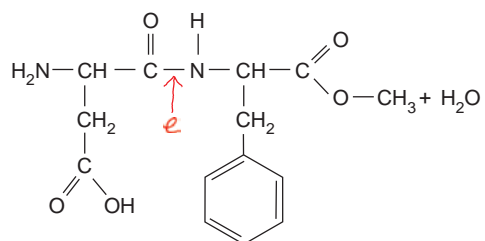
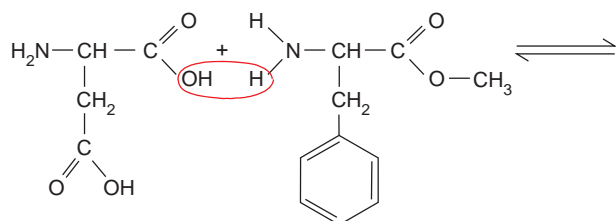
Capítulo 2

Revisão

1. Átomos com mesmo número atômico e comportamento químico são classificados como elementos químicos.
2.

3. **a.** Iônico.
   b. Ligação covalente simples.
   c. Ligação covalente dupla.
   d. Ligação de hidrogênio.
4. **a.** Reação de síntese, condensação ou desidratação.
   b. Reação de decomposição, digestão ou hidrólise.
   c. Reação de troca.
   d. Reação reversível.

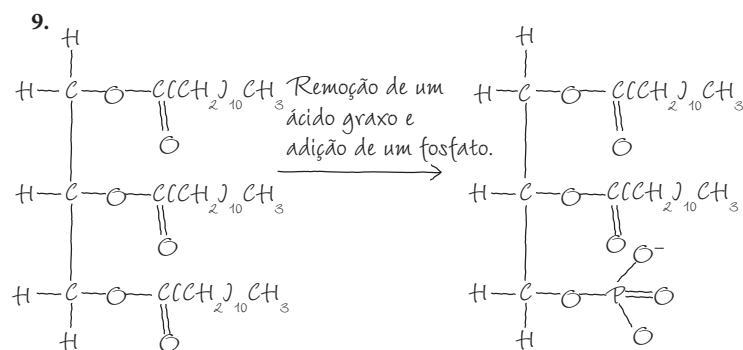
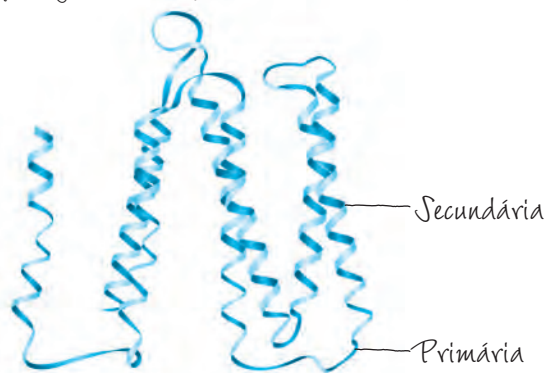
5. A enzima diminui a energia de ativação requerida para a reação e portanto acelera a reação de decomposição.
6. **a.** Lipídeo.
   b. Proteína.
   c. Carboidrato.
   d. Ácido nucleico.
7. **a.** Aminoácidos.
   b. Direita para a esquerda.
   c. Esquerda para a direita.

$H_2N-CH(CH_2COOH)-C(=O)OH + H-NH-CH(CH_2C_6H_5)-C(=O)-O-CH_3 \rightleftharpoons H_2N-CH(CH_2COOH)-C(=O)-NH-CH(CH_2C_6H_5)-C(=O)-O-CH_3 + H_2O$

e

8. A proteína inteira mostra estrutura terciária, mantida por ligações dissulfito. Sem estrutura quaternária.

9. $H_2C-O-C(=O)(CH_2)_{10}CH_3$ / $HC-O-C(=O)(CH_2)_{10}CH_3$ / $H_2C-O-C(=O)(CH_2)_{10}CH_3$

Remoção de um ácido graxo e adição de um fosfato. →

$H_2C-O-C(=O)(CH_2)_{10}CH_3$ / $HC-O-C(=O)(CH_2)_{10}CH_3$ / $H_2C-O-PO_3^-$

Múltipla escolha

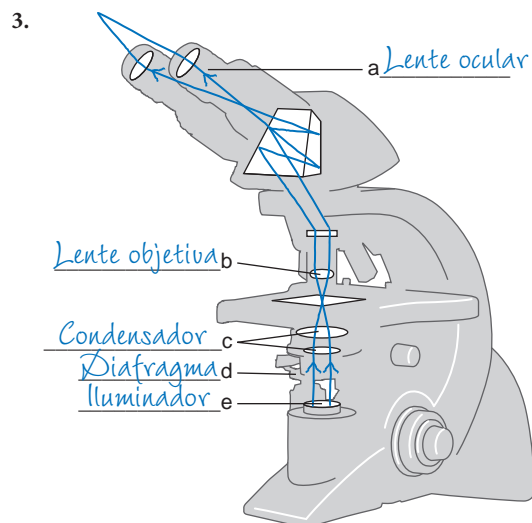
1. c
2. b
3. b
4. e
5. b
6. c
7. a
8. a
9. b
10. c

Capítulo 3

Revisão

1. **a.** 10^{-6} m; **b.** 1 nm; **c.** 10^3 nm
2. **a.** Microscópio óptico composto.
   b. Microscópio de campo escuro.
   c. Microscópio de contraste de fase.
   d. Microscópio de fluorescência.
   e. Microscópio eletrônico.
   f. Microscópio de interferência com contraste diferencial.

3.

4.

Magnificação das lentes oculares	×	Magnificação das lentes de imersão	=	Magnificação total do espécime
10×		100×		1.000×

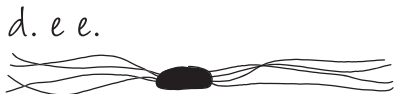
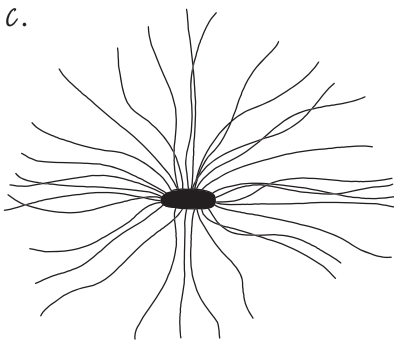
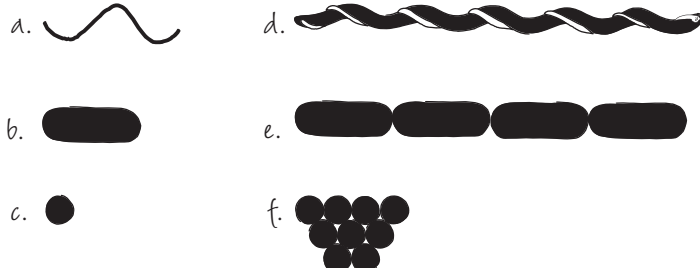
5. **a.** 2.000×
   b. 100.000×
   c. 0,2 µm
   d. 0,0025 µm
   e. Observando detalhe tridimensional.
6. Na coloração de Gram, o quelante combina-se com o corante básico, formando um complexo que não será eliminado na lavagem de células gram-positivas. Na coloração de flagelados, o quelante é acumulado no flagelo, permitindo que este seja visto em um microscópio óptico.
7. A contracoloração cora células incolores não álcool-ácido resistentes, fazendo com que possam ser vistas facilmente em um microscópio.
8. Na coloração de Gram, o removedor de corante retira a cor de células gram-negativas. Na coloração de células álcool-ácido resistentes, o removedor de corante retira o corante das células não álcool-ácido resistentes.
9. **a.** Roxo **b.** Roxo **c.** Roxo **d.** Roxo **e.** Roxo **f.** Roxo **g.** Incolor **h.** Vermelho

Múltipla escolha

1. e
2. d
3. b
4. a
5. a
6. e
7. d
8. b
9. a
10. c

Capítulo 4

Revisão

1.

2. **a.** Esporogênese.
   b. Certas condições ambientais adversas.
   c. Germinação.
   d. Condições favoráveis de crescimento.
3.

4. **a.** 4
   b. 6
   c. 1
   d. 3
   e. 1, 5
   f. 3, 9
   g. 2, 8
   h. 7
5. Um endosporo é chamado de estrutura dormente porque fornece meios para a célula "adormecer", ou sobreviver, em oposição a crescer e reproduzir. A parede protetora do endosporo permite que a bactéria resista às condições adversas do ambiente.
6. **a.** Ambos permitem que as substâncias atravessem a membrana plasmática de altas concentrações para baixas concentrações sem gasto de energia. A difusão facilitada requer uma proteína de carregamento.
   b. Ambos requerem enzimas para mover materiais através da membrana plasmática. No transporte ativo, ocorre gasto de energia.
   c. Ambos movem materiais através da membrana com gasto de energia. Na translocação de grupo, o substrato é modificado depois que atravessa a membrana.
7. **a.** O diagrama refere-se a uma bactéria gram-positiva pela ausência da camada constituída por lipopolissacarídeos-fosfolipídeos-lipoproteína.
   b. A bactéria gram-negativa inicialmente retém o corante violeta, mas ele é liberado quando a membrana externa é dissolvida pelo agente descolorante. Depois que o complexo corante/iodo entra, ele é capturado pela camada de peptideoglicano das células gram-positivas.
   c. A camada externa das células gram-positivas bloqueia a entrada de penicilina.
   d. Moléculas essenciais se difundem através da parede gram-positiva. Poros e proteínas específicas canalizadoras permitem a passagem de moléculas solúveis em água.
   e. Gram-negativa.
8. Uma enzima extracelular (amilase) hidrolisa o amido em dissacarídeos (maltose) e monossacarídeos (glicose). Uma enzima carregadora (maltase) hidrolisa a maltose e absorve uma glicose para a célula. A glicose pode ser transportada por translocação de grupo na forma de glicose-6-fosfato.

9. **a.** 3
   b. 4
   c. 7
   d. 1
   e. 6
   f. 2
   g. 5

Múltipla escolha

1. e **2.** d **3.** b **4.** a **5.** d **6.** e **7.** b **8.** e **9.** a **10.** b

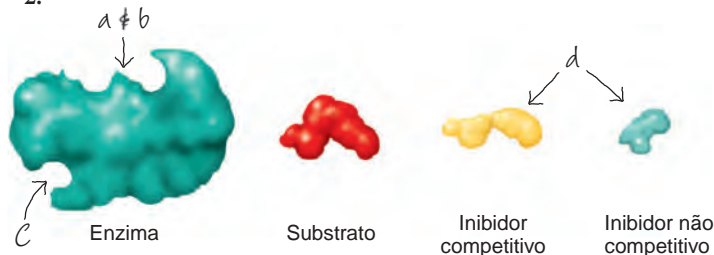
Capítulo 5

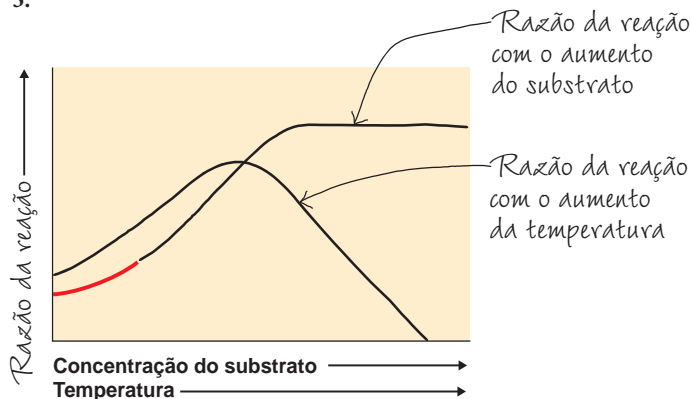
Revisão

1. **(a)** Ciclo de Calvin-Benson, **(b)** glicólise, **(c)** ciclo de Krebs.
   a. O glicerol é catabolizado por uma via (b) como di-hidroxiacetona-fosfato. Os ácidos graxos por uma via (c) como grupo acetil.
   b. Na via (c) como ácido α-cetoglutárico.
   c. O gliceraldeído-3-fosfato do ciclo de Calvin-Benson entra na glicólise. O ácido pirúvico da glicólise é descarboxilado para produzir acetil para o ciclo de Krebs.
   d. Dentro (a), entre a glicose e o gliceraldeído-3-fosfato.
   e. A conversão do ácido pirúvico em acetil, do ácido isocítrico em ácido α-cetoglutárico, e ácido α-cetoglutárico em succinil-CoA.
   f. Pela via (c) como grupo acetil.
   g.

	Uso	Produto
Ciclo de Calvin-Benson	6NADPH	
Glicólise		2 NADH
Ácido pirúvico ⟶ acetil		1 NADH
Ácido isocítrico ⟶ ácido α-cetoglutárico		1 NADH
Ácido α-cetoglutárico ⟶ succinil-CoA		1 NADH
Ácido succínico ⟶ ácido fumárico		1 FADH2
Ácido málico ⟶ ácido oxaloacético		1 NADH

   h. Di-hidroxiacetona-fosfato; acetil; ácido oxaloacético; ácido α-cetoglutárico.

2.

e. Quando a enzima e o substrato se combinam, a molécula do substrato será transformada. Quando o inibidor competitivo se liga à enzima, a enzima não será capaz de se ligar ao substrato. Quando o inibidor não competitivo se liga à enzima, o sítio ativo da enzima será alterado, fazendo com que ela não se ligue mais ao substrato.

3.

4. Oxidação-redução: uma reação dupla na qual uma substância perde elétrons e a outra ganha elétrons.
   a. O receptor final de elétrons na respiração aeróbica é o oxigênio molecular; na respiração anaeróbica, é outra molécula inorgânica.
   b. Uma cadeia de transporte de elétrons é usada na respiração, mas não na fermentação. O receptor final de elétrons na respiração geralmente é inorgânico; na fermentação, geralmente é orgânico.
   c. No ciclo de fotofosforilação, os elétrons retornam à clorofila. No oposto, a clorofila recebe elétrons de átomos de hidrogênio.
5. **a.** Fotofosforilação.
   b. Fosforilação oxidativa.
   c. Fosforilação em nível do substrato.
6. Oxidação.
7. **a.** CO_2
   b. Luz
   c. Moléculas orgânicas
   d. Luz
   e. CO_2
   f. Moléculas inorgânicas
   g. Moléculas orgânicas
   h. Moléculas orgânicas
8. Prótons são transportados de um lado para outro da membrana; a transferência de prótons retornando através da membrana gera ATP. **a** e **b.** A porção externa é ácida e possui carga negativa. **c.** Sítios de conservação de energia são três lócus onde os prótons são transportados para fora. **d.** Energia cinética é realizada com síntese de ATP.
9. NAD^+ é necessário para capturar mais elétrons. NADH em geral é reoxidado durante a respiração. NADH pode ser reoxidado na fermentação.

Múltipla escolha

1. a **2.** d **3.** b **4.** c **5.** c **6.** b **7.** b **8.** a **9.** c **10.** b

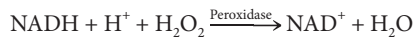
Capítulo 6

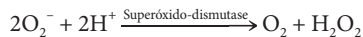
Revisão

1. Na fissão binária, a célula se alonga, e os cromossomos se replicam. Então, o material nuclear é dividido. A membrana plasmática invagina-se em direção ao centro da célula. A parede celular se alarga e cresce entre as invaginações da membrana, resultando em duas novas células.

2. Carbono: síntese de moléculas que produzem uma célula viva. Hidrogênio: fonte de elétrons e componentes de moléculas orgânicas. Oxigênio: componente de moléculas orgânicas, receptor de elétrons em aeróbicos. Nitrogênio: componente de aminoácidos. Fósforo: em fosfolipídeos e ácidos nucleicos. Enxofre: em alguns aminoácidos.

3. **a.** Catalisa a quebra de H_2O_2 em O_2 e H_2O.
b. H_2O_2; o íon peróxido é o O_2^{-2}.
c. Catalisa a quebra de H_2O_2.

$$NADH + H^+ + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Peroxidase}} NAD^+ + H_2O$$

d. O_2^-; este ânion possui um elétron não pareado.
e. Converte superóxido em O_2 e H_2O_2.

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{Superóxido-dismutase}} O_2 + H_2O_2$$

As enzimas são importantes protegendo as células de agentes oxidantes, peróxido e superóxido, formados durante a respiração.

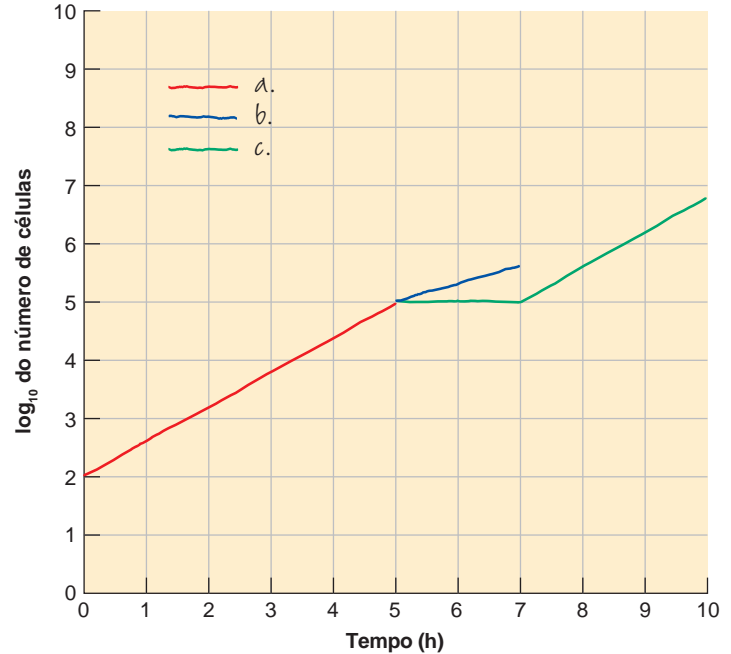
4. Métodos diretos são aqueles nos quais os micro-organismos podem ser vistos e contados. Eles incluem contagem direta no microscópio, contagem de placa, filtração e número mais provável.

5. O crescimento das bactérias diminui com a redução da temperatura. Bactérias mesofílicas crescerão devagar em baixas temperaturas e se manterão dormentes no freezer. As bactérias não estragarão rapidamente alimentos no refrigerador.

6. Número de células $\times$ 2^n gerações = número total de células
6 $\times$ 2^7 = 768

7. O petróleo pode fornecer carbono e energia para bactérias que degradam óleo; entretanto, nitrogênio e fosfato geralmente não estão disponíveis em grandes quantidades. Eles são essenciais para a produção de proteínas, fosfolipídeos, ácidos nucleicos e ATP.

8. Um meio quimicamente definido é aquele no qual a composição química é conhecida. Um meio complexo é aquele no qual a composição química exata não é conhecida.

9.

Múltipla escolha

1. c
2. a
3. c
4. a
5. c
6. d
7. e
8. c
9. b
10. b

Capítulo 7

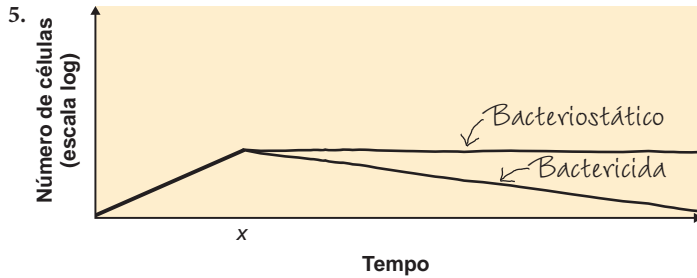
Revisão

1. Autoclave. Devido ao alto calor específico da água, o calor é totalmente transferido para as células.

2. A pasteurização destrói muitos micro-organismos que causam doenças ou estragam os alimentos.

3. As variáveis que afetam a determinação do ponto de morte por calor são:
- Resistência inata de algumas linhagens de bactérias.
- Histórico da cultura, se congelada seca ou molhada, etc.
- Agregação das células durante o teste.
- Quantidade de água presente.
- Matéria orgânica presente.
- Meio e temperatura de incubação utilizados para determinar a viabilidade da cultura depois do aquecimento.

4. **a.** A habilidade da radiação ionizante em quebrar diretamente o DNA. Entretanto, devido à alta concentração de água nas células, são formados radicais livres (H• e OH•) que quebram fitas de DNA.
b. Formação de dímeros de timina.

5.

6. Todos os três processos matam micro-organismos; entretanto, quando a umidade e/ou temperaturas são altas, menos tempo é requerido para o mesmo resultado.
7. Sais e açúcares criam um ambiente hipertônico. Sais e açúcares (como conservantes) não afetam diretamente estruturas ou metabolismos celulares; eles alteram a pressão osmótica. Doces e geleias são conservados com açúcar; carnes em geral são conservadas com sal. Os fungos são mais capazes de crescer em altas pressões osmóticas do que as bactérias.
8. O desinfetante B é preferível, pois pode ser mais diluído e continuar sendo efetivo.
9. Compostos de amônio quaternário são mais efetivos contra bactérias gram-positivas. Bactérias gram-negativas aderidas às rachaduras da banheira ou ao redor do ralo não serão eliminadas quando a banheira for limpa. Essas bactérias gram-negativas podem sobreviver a procedimentos de lavagem. Algumas pseudomonas podem crescer em restos de sabão acumulados.

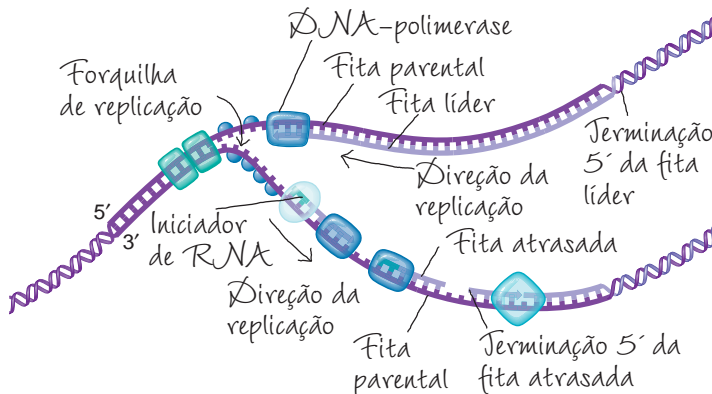
Múltipla escolha

1. d **6.** b
2. b **7.** b
3. d **8.** a
4. d **9.** a
5. b **10.** b

Capítulo 8

Revisão

1. O DNA consiste em uma cadeia de açúcares alternados (desoxirribose) com grupos de fosfato e uma base de nitrogênio aderida a cada açúcar. As bases são adenina, timina, citosina e guanina. O DNA existe nas células como uma cadeia dupla, formando a hélice dupla. As duas cadeias são mantidas juntas por ligações de hidrogênio existentes entre as bases nitrogenadas. As bases são pareadas em uma forma específica e complementar: A-T e C-G. A informação contida na sequência de nucleotídeos do DNA é a base para a síntese de RNA e proteínas da célula.

2.

3. **a.** ATATTACTTTGCATGGACT.
b. met-lys-arg-thr-(fim).
c. TATAATGAAACGTTCCTGA.
d. Sem mudança.
e. Cisteína substituída por arginina.
f. Prolina substituída por treonina (mutação com sentido).
g. Mutação de fase de janela de leitura.
h. Timidinas adjacentes podem polimerizar.
i. ACT.

4. **a.** 2 **d.** 1
b. 4 **e.** 5
c. 3

5. **a.** (**1**) repressor
(**2**) operador
(**3**) repressor
(**4**) transcrição
b. (**1**) correpressor
(**2**) repressor
(**3**) operador
A depressão ocorre quando o repressor está ausente.
c. Nenhum; enzimas constitutivas são produzidas em certos níveis, independentemente da quantidade de substrato ou produto final.

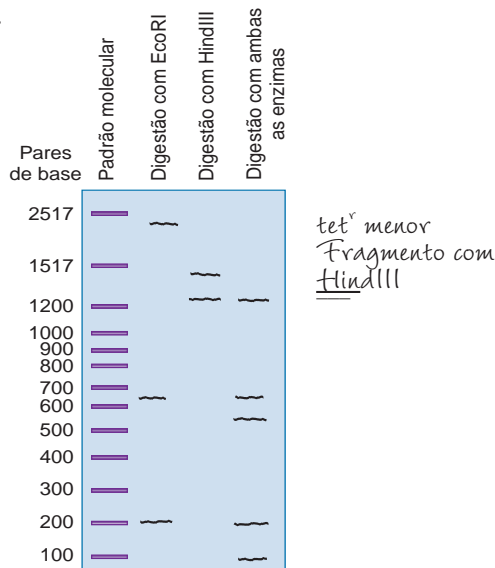
6. CTTTGA. Endosporos e pigmentos oferecem proteção contra radiação UV. Além disso, mecanismos reparadores podem remover e substituir polímeros de timina.
7. **a.** A cultura 1 irá se manter a mesma. A cultura 2 irá se converter em F^+, mas manterá seu genótipo original.
b. O doador e o receptor de DNA da célula podem se recombinar para formar combinações de $A^+B^+C^+$ e $A^-B^-C^-$. Se o plasmídeo F também for transferido, a célula receptora pode se tornar F^+.
8. A replicação semiconservativa garante que a progênie da célula possua uma fita correta de DNA. Qualquer mutação que ocorra durante a replicação do DNA tem uma grande probabilidade de ser reparada ou corrigida.
9. Mutação e recombinação mantêm a diversidade genética. Fatores ambientais selecionam os organismos sobreviventes por seleção natural. A diversidade genética é necessária para a sobrevivência de alguns organismos pelo processo de seleção natural. Os organismos que sobrevivem podem manter suas mudanças genéticas, resultando na evolução das espécies.

Múltipla escolha

1. c **3.** c **5.** d **7.** a **9.** d
2. d **4.** d **6.** b **8.** c **10.** a

Capítulo 9

Revisão

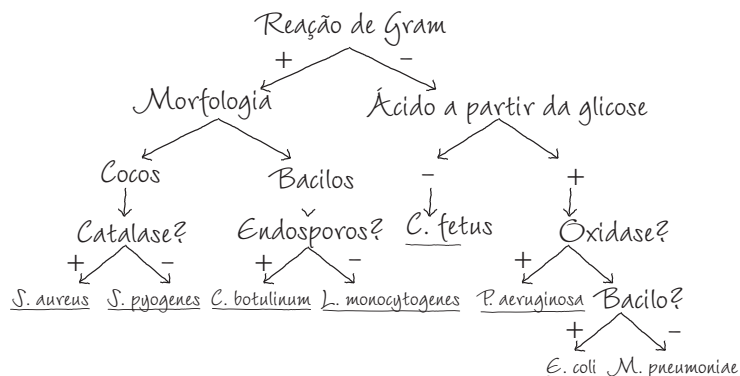
1. **a.** Ambos são DNA. O cDNA é um segmento de DNA feito a partir da DNA-polimerase dependente de RNA. Não é necessariamente um gene; um gene é uma unidade de DNA que codifica uma proteína ou um RNA.
   b. Ambos são DNA. Um fragmento de restrição é um segmento de DNA produzido quando uma endonuclease de restrição hidrolisa o DNA. Não é usualmente um gene; um gene é uma unidade de DNA que codifica uma proteína ou um RNA.
   c. Ambos são DNA. Uma sonda de DNA é um pedaço curto de DNA de fita simples. Não é usualmente um gene; um gene é uma unidade de DNA que codifica uma proteína ou um RNA.
   d. Ambos são enzimas. A DNA-polimerase sintetiza DNA, um nucleotídeo por vez, usando uma fita de DNA como molde; a DNA-ligase conecta pedaços de DNA.
   e. Ambos são DNA. DNAs recombinantes resultam da junção de fitas de DNA provenientes de diferentes fontes; cDNA resulta da cópia de um RNA de fita simples.
   f. O proteoma é a expressão do genoma. O genoma de um organismo é uma cópia completa da informação genética. As proteínas codificadas por esse material genético compreendem o proteoma.
2. Em uma fusão de protoplasma, duas células sem parede se fundem para combinar seu DNA. Uma grande variedade de fenótipos pode resultar desse processo. Em b, c e d, genes específicos são inseridos diretamente na célula.
3.

4. **a.** *Bam*HI, *Eco*RI *e Hin*dIII produzem terminações coesivas.
   b. Fragmentos de DNA produzidos com a mesma enzima de restrição irão se anelar espontaneamente nas suas extremidades coesivas.
5. O gene pode ser circularizado em um plasmídeo e inserido em uma bactéria. Com o crescimento da bactéria, o plasmídeo também crescerá em número. A PCR pode fazer cópias de DNA usando a DNA-polimerase *in vitro*.
6. Em uma célula eucariótica, a RNA-polimerase copia o DNA; o processamento do RNA elimina os íntrons, deixando os éxons no RNA mensageiro. cDNA pode ser feito pela transcriptase reversa a partir de mRNA.
7. Veja as tabelas 9.2 e 9.3.
8. Você provavelmente usará algumas células de plantas em uma placa de Petri para seu experimento. Como você irá selecionar a linhagem celular de planta para crescer o novo plasmídeo Ti? Você pode crescer essas células em um meio para células vegetais com tetraciclina. Somente nessas células o plasmídeo poderá ser replicado.
9. No RNAi, o siRNA se liga ao mRNA, criando um RNA de fita dupla, o qual é enzimaticamente destruído.

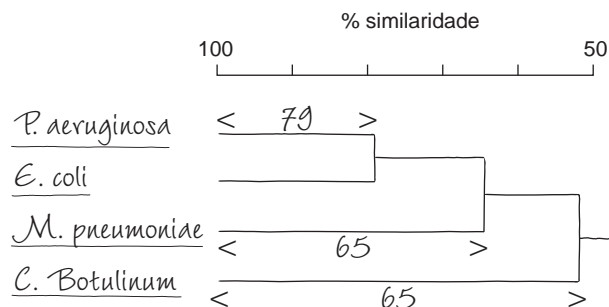
Múltipla escolha

1. b
2. b
3. b
4. b
5. c
6. d
7. c
8. b
9. e
10. a

Capítulo 10

Revisão

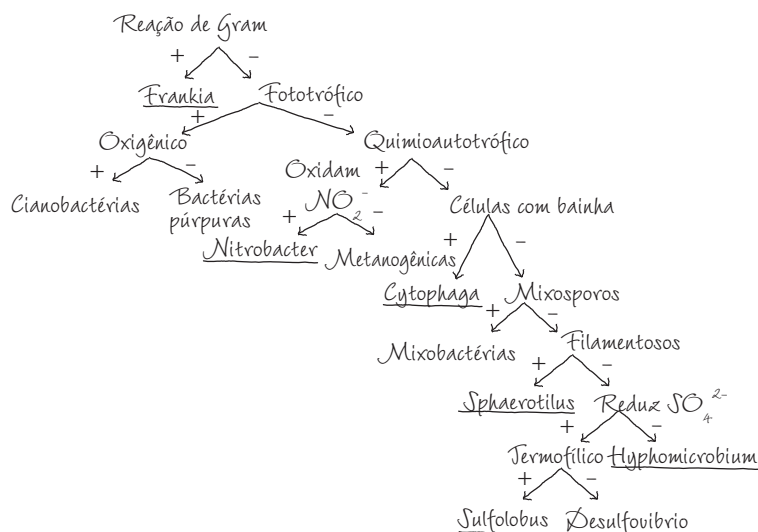
1. A e D parecem ser mais proximamente relacionadas por terem razão similar de G e C. Não parecem ser da mesma espécie.
2. A e D são as mais proximamente relacionadas.
3. Uma chave possível é mostrada abaixo. Chaves alternativas podem ser feitas começando-se com dados morfológicos ou com a fermentação da glicose.

4. O propósito de um cladograma é mostrar o grau de relação entre os organismos. A chave dicotômica pode ser usada para identificação, mas não mostra a relação como o cladograma. Micoplasma e Escherichia formam um lado da chave, mas a chave mostra que Micoplasma está mais relacionado com Clostridium.

Múltipla escolha

1. b	**3.** d	**5.** e	**7.** a	**9.** a
2. e	**4.** b	**6.** a	**8.** e	**10.** b

Capítulo 11

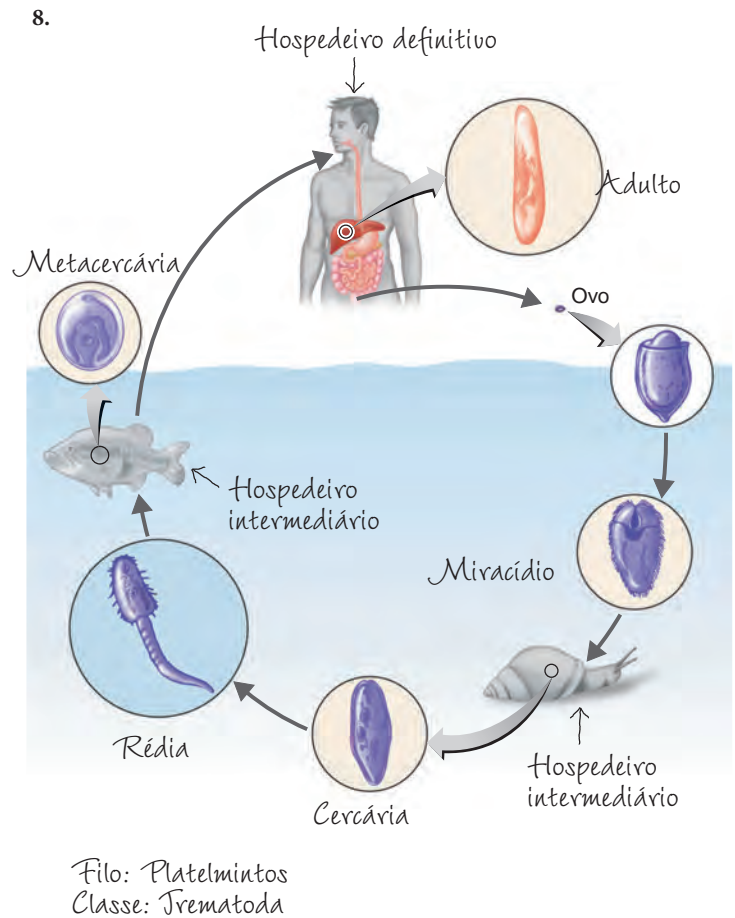
Revisão

1. **a.** *Clostridium*
   b. *Bacillus*
   c. *Streptomyces*
   d. *Mycobacterium*
   e. *Streptococcus*
   f. *Staphylococcus*
   g. *Treponema*
   h. *Spirillum*
   i. *Pseudomonas*
   j. *Escherichia*
   k. *Mycoplasma*
   l. *Ricketitsia*
   m. *Chlamydia*
2. **a.** Ambos são oxigênicos fotoautotróficos. Cianobactérias são procariotos; algas são eucariotos.
   b. Ambos são quimio-heterotróficos capazes de formar micélio; alguns a partir de conídeos. Actinomicetos são procariotos; fungos são eucariotos.
   c. Ambos são bactérias grandes e redondas. *Bacillus* formam endosporos, *Lactobacillus* são bacilos fermentadores e não formadores de endosporos.
   d. Ambos são bastonetes. *Pseudomonas* apresenta um metabolismo oxidativo; *Escherichia* é fermentadora. *Pseudomonas* tem flagelo polar; *Escherichia* tem flagelos peritríquios.
   e. Ambas são bactérias helicoidais. *Leptospira* (uma espiroqueta) tem um filamento axial. *Spirillum* tem flagelos.
   f. Ambas são bastonetes gram-negativos. *Escherichia* são anaeróbicas facultativas e *bacteroides* são anaeróbicos.
   g. Ambos são parasitas intracelulares obrigatórios. *Ricketitsia* são transmitidas por carrapatos; *Chlamydia* tem um ciclo de desenvolvimento único.
   h. Ambos não possuem parede celular de peptedeoglicano. *Ureaplasma* são arquibactérias; *Mycoplasma* são bactérias (veja a Tabela 10.2).
3. Existem muitas formas de se desenhar uma chave. Este é um exemplo.

Múltipla escolha

1. d	**6.** c
2. b	**7.** e
3. e	**8.** b
4. a	**9.** b
5. b	**10.** a

Capítulo 12

Revisão

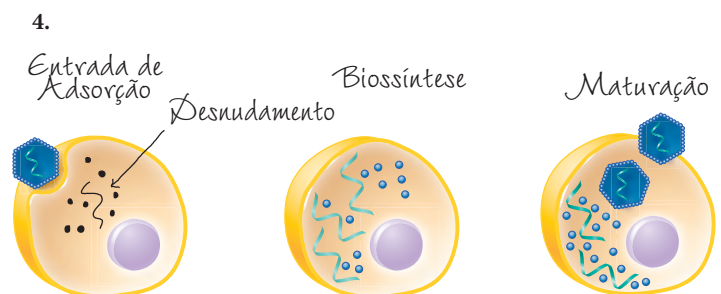
1. **a.** Sistêmica
   b. Subcutânea
   c. Cutânea
   d. Superficial
   e. Sistêmica
2. **a.** *E. coli*
   b. *P. chrysogenum*
3. Como primeiros colonizadores, somente recentemente expostos a rochas ou solo, liquens são responsáveis pela degradação química de grandes partículas inorgânicas e seu consequente acúmulo no solo.
4. Fungos gelatinosos celulares existem como células ameboides individuais. Fungos gelatinosos plasmodiais são massas multinucleadas de protoplasma. Ambos sobrevivem às condições adversas do ambiente formando esporos.
5. **a.** Flagella
   b. *Giardia*
   c. Nenhuma
   d. *Nosema*
   e. Pseudópodes
   f. *Entamoeba*
   g. Nenhuma
   h. *Plasmodium*
   i. Ciliados
   j. *Balantidium*
   k. Flagelo
   l. *Trypanosoma*
6. *Trichomonas* não sobrevive fora do hospedeiro por muito tempo, pois não forma um cisto protetor. *Trichomonas* precisa ser transferido de hospedeiro para hospedeiro rapidamente.
7. Ingestão.
8.

9. Os órgãos reprodutivos masculinos estão em um indivíduo, e os órgãos reprodutivos femininos estão em outro indivíduo.

Múltipla escolha

1. c **2.** b **3.** b **4.** a **5.** d **6.** b **7.** a **8.** c **9.** a **10.** d

Capítulo 13

Revisão

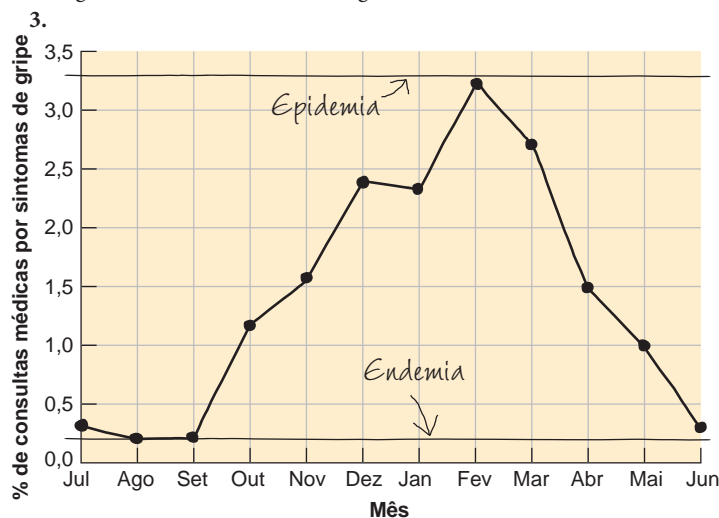
1. Vírus são parasitas intracelulares obrigatórios.
2. Um vírus
   a. contém DNA ou RNA;
   b. possui uma proteína que protege o ácido nucleico;
   c. multiplica-se dentro de uma célula viva utilizando a maquinaria sintética da célula, e
   d. causa a síntese de novos vírus.
   Um vírus está totalmente formado quando é capaz de transferir seu material genético para outra célula.
3. Poliédrico (Figura 13.2); helicoidal (Figura 13.4); envelopado (Figura 13.3); complexo (Figura 13.5).
4.

5. Ambos produzem RNA de fita dupla, com a fita negativa servindo de molde para as fitas positivas em ambos os grupos de vírus.
6. O tratamento de *S. aureus* com antibiótico pode ativar genes de fagos que codificam a leucocidina P-V.
7. **a.** Vírus não podem ser facilmente visualizados no tecido hospedeiro. Eles não podem ser facilmente cultivados para serem introduzidos em um novo hospedeiro. Os vírus são específicos para seus hospedeiros e células, tornando difícil a utilização de um animal de laboratório para satisfazer o terceiro postulado de Koch.
   b. Alguns vírus podem infectar células sem induzir o câncer. O câncer somente pode ser induzido ao final da infecção, e não parece ser contagioso.
8. **a.** Panencefalite esclerosante subaguda.
   b. Vírus comuns.
   c. As respostas podem variar. Um exemplo de mecanismo possível é a latência, em um tecido anormal.
9. **a.** Da parede celular rígida.
   b. Vetores como insetos sugadores de seiva.
   c. Protoplasma de plantas e cultura de células de insetos.

Múltipla escolha

1. e	**6.** e
2. c	**7.** c
3. b	**8.** d
4. c	**9.** d
5. b	**10.** c

Capítulo 14

Revisão

1. **a.** Etiologia é o estudo da causa da doença, enquanto patogênese é a maneira como a doença se desenvolve.
   b. Infecção se refere à colonização do corpo pelo micro-organismo. Doença é qualquer mudança no estado de saúde, podendo resultar da infecção, mas nem sempre isso ocorre.
   c. Doença comunicável é aquela transmissível de um hospedeiro para outro. Doença não comunicável não pode ser transmitida de um hospedeiro para outro.
2. Simbiose refere-se a diferentes organismos vivendo juntos. Comensalismo – um organismo é beneficiado e o outro não é afetado; p. ex., corinebactéria vivendo na superfície do olho. Mutualismo – ambos os organismos são beneficiados; p. ex., *E. coli* recebe nutrientes e temperatura constante do intestino grosso e produz vitamina K e certas vitaminas B, úteis para o hospedeiro humano. Parasitismo – um organismo é beneficiado enquanto o outro é prejudicado; p. ex., *Salmonella enterica* recebe nutrientes e calor no intestino grosso, enquanto o organismo humano desenvolve gastrenterites e febre tifoide.
3.

4. **a.** Aguda
   b. Crônica
   c. Subaguda
5. Pacientes em hospitais podem estar em condição fraca e, portanto, predispostos a uma infecção. Micro-organismos patogênicos geralmente são transmitidos a pacientes por contato e por transmissão aérea. Os reservatórios da infecção são os funcionários do hospital, os visitantes e outros pacientes.
6. Mudanças nas funções corporais sentidas pelo paciente são chamadas de *sintomas*. Sintomas como fraqueza ou dor não podem ser medidos por um médico. Mudanças objetivas que podem ser medidas são chamadas de *sinais*.
7. Quando micro-organismos causando uma infecção local entram no sangue ou nos vasos linfáticos e são disseminados pelo corpo, o resultado é uma infecção sistêmica.
8. Micro-organismos mutualistas geram mudanças químicas ou ambientais que são essenciais para o hospedeiro. Organismos comensais não são essenciais; outros organismos podem prover a necessidade.
9. Período de incubação, período prodrômico, período da doença, período de convalescença.

Múltipla escolha

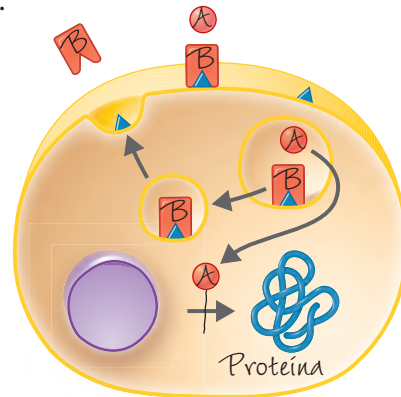
1. a	**6.** b
2. b	**7.** c
3. a	**8.** a
4. d	**9.** c
5. a	**10.** d

Capítulo 15

Revisão

1. A habilidade de um micro-organismo em produzir a doença é chamada de *patogenicidade*. O grau de patogenicidade é a *virulência*.
2. A bactéria encapsulada pode resistir à fagocitose e continuar crescendo. *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae* produzem cápsulas que estão relacionadas a sua virulência. A proteína M, encontrada na parede celular de *Streptococcus pneumoniae*, e a proteína A, encontrada na parede celular de *Staphylococcus aureus,* ajudam as bactérias a resistir à fagocitose.
3. A hemolisina lisa eritrócitos; a hemólise pode fornecer nutrientes para o crescimento da célula bacteriana. As leucocidinas destroem neutrófilos e macrófagos que são ativos na fagocitose; isso diminui a resistência do hospedeiro à infecção. A coagulase faz com que o fibrinogênio no sangue se coagule; a coagulação pode proteger a bactéria da fagocitose e de outras defesas do organismo. As cinases bacterianas quebram fibras; elas podem destruir um coágulo feito para isolar a bactéria, permitindo então que se espalhe pelo corpo. A hialuronidase hidrolisa o ácido hialurônico que mantém as células juntas; isso pode permitir que as bactérias se disseminem pelos tecidos. Os sideróforos retiram ferro das proteínas transportadoras de ferro do organismo, permitindo que a bactéria utilize o ferro para seu crescimento. As IgA-proteases destroem anticorpos IgA, os quais protegem a superfície das mucosas.
4. **a.** Iria inibir a bactéria.
   b. Iria prevenir a aderência de *N. gonorrhoeae.*
   c. *S. pyogenes* não seria capaz de se aderir às células hospedeiras e seria mais suscetível à fagocitose.
5.

	Exotoxina	Endotoxina
Fonte bacteriana	Gram +	Gram -
Química	Proteínas	Lipídeo A
Toxigenicidade	Alta	Baixa
Farmacologia	Destrói certas partes ou funções fisiológicas	Sistêmica, febre, fraqueza, dores e choque
Exemplo	Toxina botulínica	Salmonelose

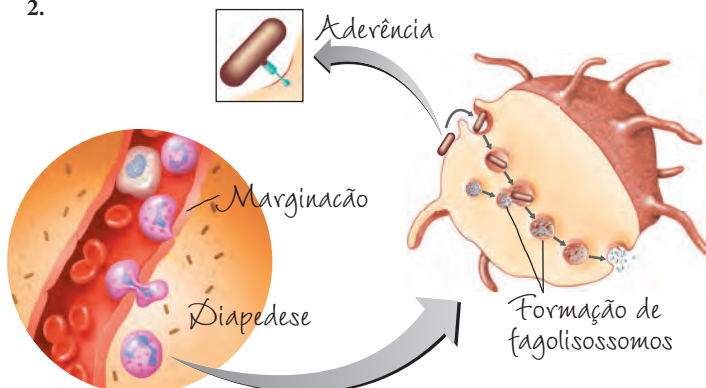
6.

7. Fungos patogênicos não têm fatores de virulência específicos; cápsulas, produtos metabólicos, toxinas e respostas alérgicas contribuem para a virulência e a patogenicidade dos fungos. Alguns fungos produzem toxinas que, quando ingeridas, causam doenças. Protozoários e helmintos geram sintomas destruindo os tecidos do hospedeiro e produzindo descartes metabólicos tóxicos.
8. *Legionella*.
9. Os vírus evitam a resposta imune do hospedeiro crescendo dentro da célula; muitos podem permanecer latentes na célula hospedeira por longos períodos. Alguns protozoários evitam o sistema imunológico por mutações em seus antígenos.

Múltipla escolha

1. e **2.** c **3.** d **4.** d **5.** c **6.** a **7.** b **8.** a **9.** d **10.** c

Capítulo 16

Revisão

1. **a.** Mecânicos: movimento de saída; Químicos: lisossomo, ácidos.
   b. Mecânicos: movimento de saída; Químicos; acidificação do ambiente em fêmeas.
2.

3. Inflamação é a resposta do corpo a um dano ao tecido. Os sintomas de inflamação característicos são vermelhidão, dor, calor e sudorese.
4. Interferons são proteínas antivirais produzidas por células infectadas em resposta à infecção viral. Interferon α e interferon β induzem as células não infectadas a produzir proteínas antivirais. Interferon γ é produzido por linfócitos e ativa neutrófilos para matar bactérias.
5. A endotoxina se liga a C3b, o qual ativa C5-C9 para causar lise celular. Isso pode resultar em fragmentos livres de parede celular, os quais se ligam a mais C3b, resultando em C3-C9, danificando as membranas das células hospedeiras.
6. O oxigênio tóxico produzido pode matar patógenos.
7. O receptor de anticorpo se combina com o doador de antígeno e fixa o complemento; a ativação do complemento causa hemólise.
8. Inibe a formação de C3b; previne a formação de MAC; hidrolisa C5a.

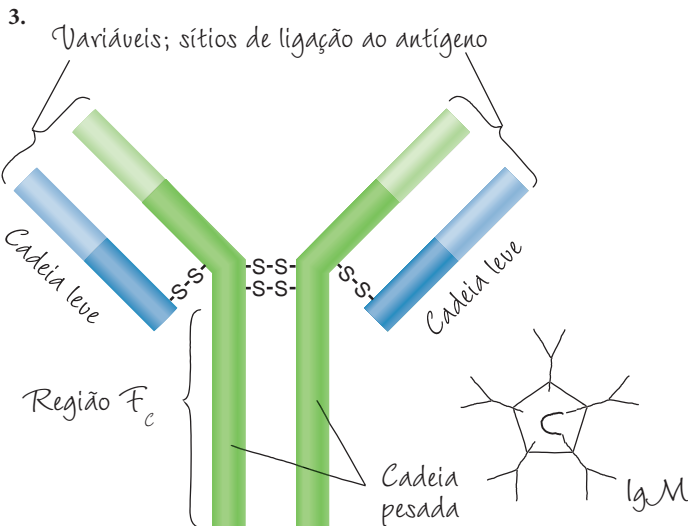
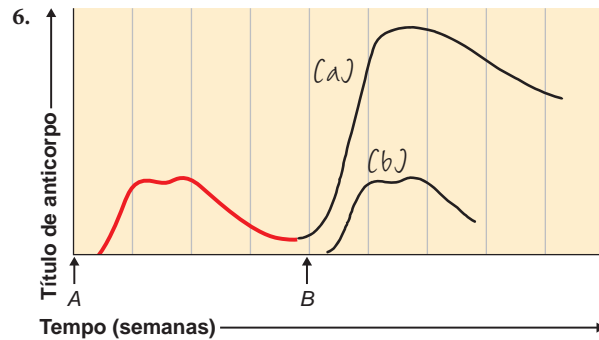
9. **a.** Inato. Facilita a aderência do fagócito e do patógeno.
   b. Inato. Liga ferro.
   c. Inato. Mata ou inibe bactérias.

Múltipla escolha

1. a **6.** a
2. d **7.** c
3. c **8.** b
4. d **9.** d
5. b **10.** e

Capítulo 17

Revisão

1. **a.** Imunidade adaptativa é a resistência à infecção obtida durante a vida do indivíduo; é resultado da produção de anticorpos e células T. Imunidade inata é a resistência de espécies ou indivíduos a certas doenças que não dependem da imunidade antígeno-específica.
   b. Imunidade humoral é devida a anticorpos (e células B). Imunidade celular é devida a células T.
   c. Imunidade ativa refere-se a anticorpos produzidos pelo indivíduo que os possui. Imunidade passiva refere-se a anticorpos produzidos por outra fonte, sendo então transferidos ao indivíduo que necessita deles.
   d. Células T_H1 produzem citocinas que ativam as células T. As citocinas produzidas por células T_H2 ativam as células B.
   e. A imunidade natural é adquirida naturalmente, isto é, da mãe para o recém-nascido ou após uma infecção. A imunidade artificial é adquirida por meio de um tratamento médico, isto é, pela injeção de anticorpos ou pela vacinação.
   f. Antígenos T-dependentes: certos antígenos precisam se combinar com antígenos próprios para que possam ser reconhecidos pelas células T_H e então pelas células B. Antígenos T-independentes podem gerar uma resposta por anticorpos sem a presença de células T.
   g. Células T podem ser classificadas de acordo com seus antígenos de superfície: células T_H possuem o antígeno CD4; células TC apresentam o antígeno CD8.
   h. Imunoglobulinas = anticorpos; TCRs = receptores de antígenos em células T.
2. O MHC são antígenos próprios. Células T_H reagem com o MHC II; células T_c reagem com o MHC I.
3.

4. Veja a Figura 17.19.
5. Células T_C (CTLs) ativadas destroem células-alvo por contato. Células T_H interagem com os antígenos para "apresentá-los" às células B para a formação de anticorpos. Células T_R suprimem a resposta imune. Citocinas são químicos liberados pela célula que iniciam a resposta por outras células.
6.

7. Ambos irão prevenir a adsorção do patógeno; (a) interfere com o sítio de adsorção do patógeno; (b) interfere com o sítio receptor do patógeno.
8. A reorganização do gene V durante o desenvolvimento embrionário produz células B com diferentes genes para anticorpos.
9. A pessoa se recupera porque produz anticorpos contra o patógeno. A resposta por memória irá continuar para proteger a pessoa contra o patógeno.

Múltipla escolha

1. d **6.** e
2. e **7.** c
3. b **8.** d
4. c **9.** c
5. d **10.** d

Capítulo 18

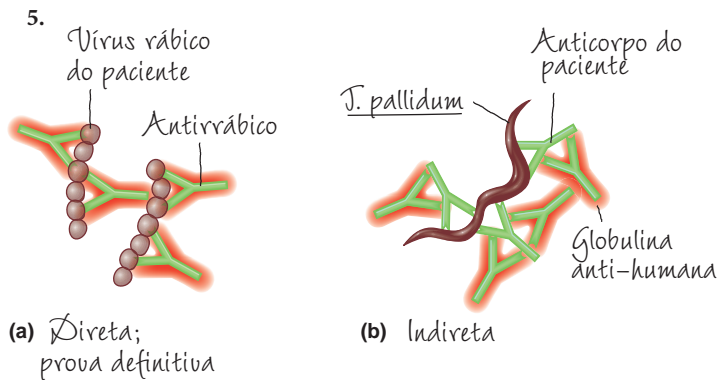
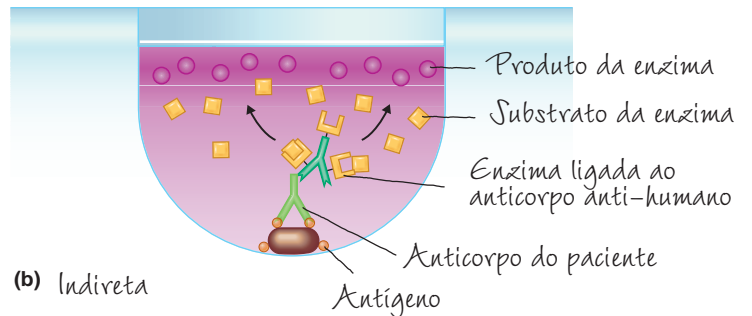
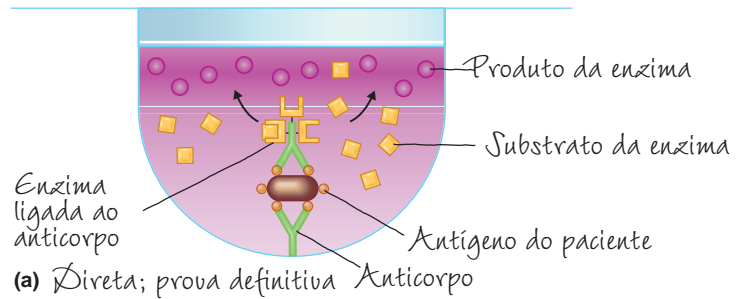
Revisão

1. **a.** Agente total. Vivo, vírus atenuado que pode causar a doença se, por mutação, voltar ao seu estado virulento.
   b. Agente total; toxina inativada; bactéria morta (por calor).
   c. Subunidade; (por calor ou formalina) .
   d. Subunidade.
   e. Subunidade.
   f. Conjugado.
   g. Ácido nucleico.
2. Se um excesso de anticorpo está presente, o antígeno vai se ligar a várias moléculas de anticorpo. Se um excesso de antígeno está presente, o anticorpo irá se ligar a vários antígenos. Veja a Figura 18.3.
3. Antígenos particulados reagem em reações de aglutinação. Os antígenos podem ser células ou antígenos solúveis ligados a partículas sintéticas. Antígenos solúveis participam de reações de precipitação.
4. **a.** Alguns vírus são capazes de aglutinar com os glóbulos vermelhos. Esta reação é usada para detectar a presença de um grande número de vírus capazes de causar hemaglutinação (p. ex., *Influenzavirus*).
   b. Anticorpos produzidos contra vírus capazes de aglutinar com os glóbulos vermelhos irão inibir a aglutinação. A inibição da hemaglutinação pode ser usada para detectar a presença de anticorpos contra estes vírus.
   c. Este é um procedimento usado para detectar anticorpos que reagem com antígenos solúveis primeiro ligando-os a esferas de látex insolúveis. O procedimento pode ser usado para detectar a presença de anticorpos desenvolvidos durante alguma infecção micótica ou helmíntica.
5.

(a) Direta; prova definitiva **(b)** Indireta

6.

(a) Direta; prova definitiva

(b) Indireta

7. Veja a Figura 18.2.
8. **a.** 5 **b.** 4, 6 **c.** 1 **d.** 3 **e.** 6 **f.** 2, 4
9. **a.** 5 **b.** 3 **c.** 1 **d.** 6 **e.** 2 **f.** 4

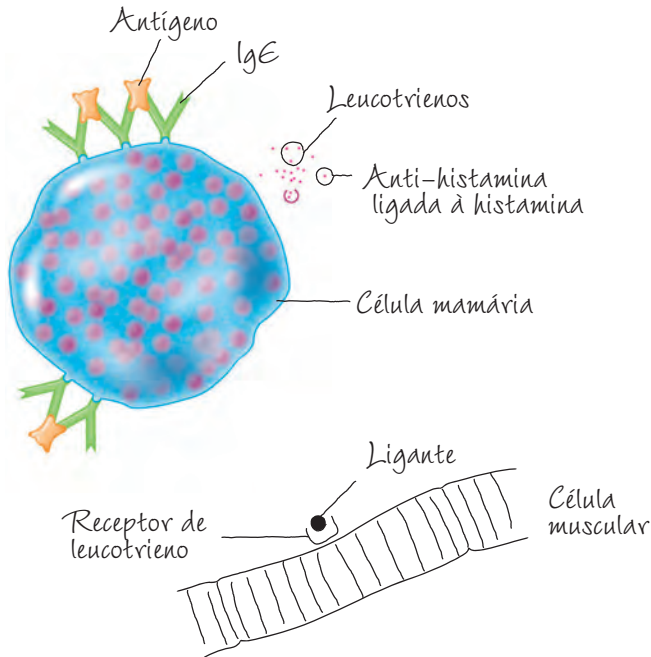
Múltipla escolha

1. c	**6.** b
2. d	**7.** c
3. b	**8.** a
4. a	**9.** b
5. a	**10.** c

Respostas

Capítulo 19

Revisão

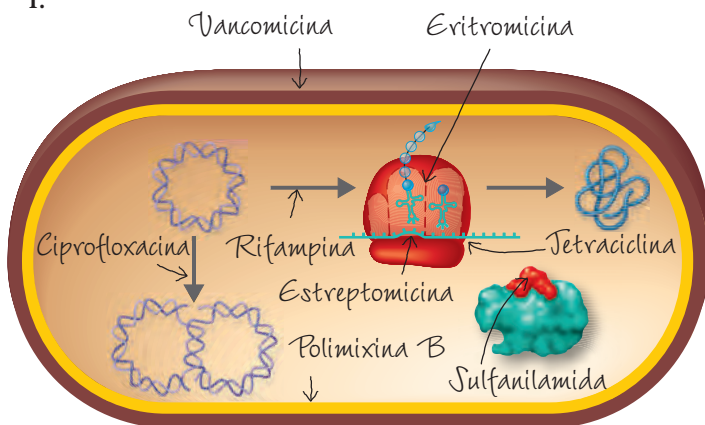
1.

2. O soro do paciente receptor contém complemento; a ativação do complemento causa hemólise.
3. Os anticorpos do paciente receptor irão reagir com o tecido do doador.
4. Refere-se à Figura 19.7.
   a. Os sintomas observados são devidos às linfocinas.
   b. Quando a pessoa entra em contato com o veneno pela primeira vez, o antígeno se liga às células do tecido, é fagocitado pelos macrófagos e é então apresentado aos receptores na superfície de células T. O contato entre o antígeno e a célula T apropriada estimula a célula T a proliferar e tornar-se sensível. Com a subsequente exposição ao antígeno, a célula T sensível libera linfocinas, e ocorre um atraso na hipersensibilidade.
   c. Acredita-se que pequenas doses repetidas do antígeno sejam responsáveis pela produção de IgG.
5. Pacientes com lúpus têm anticorpos contra seu próprio DNA.
6. Citotoxicidade: anticorpos reagem com antígenos da superfície celular. Complexo imune: os complexos de anticorpo-complemento são depositados nos tecidos. Mediados pela célula: células T destroem a si mesmas. (Veja a Tabela 19.1)
7. Congênitas
   Adquiridas
      Infecções virais, muito provavelmente HIV
      Induzidas por drogas imunossupressoras
   Resultado: aumento da suscetibilidade a várias infecções, dependendo do tipo de deficiência imune.
8. Células tumorais possuem antígenos tumor-específicos, como TSTA e antígeno T. Células T_C sensíveis podem reagir com antígenos tumor-específicos, iniciando a lise de células tumorais.
9. Algumas células malignizadas podem escapar do sistema imunológico por modulação do antígeno ou escape imunológico. A imunoterapia pode mascarar a melhora imunológica. As defesas do corpo contra o câncer são mediadas por células e não são humorais. A transferência de linfócitos poderia causar a doença enxerto-*versus*-hospedeiro.

Múltipla escolha

1. b **2.** b **3.** b **4.** a **5.** d **6.** e **7.** a **8.** d **9.** c **10.** b

Capítulo 20

Revisão

1.

2. A droga (1) deve exibir toxicidade seletiva; (2) deve apresentar amplo espectro; (3) não deve produzir hipersensibilidade no hospedeiro; (4) não deve gerar resistência; e (5) não deve afetar a microbiota normal.
3. Devido ao fato de que os vírus utilizam a maquinaria metabólica da célula, é difícil afetar o vírus sem danificar a célula hospedeira. Fungos, protozoários e helmintos possuem células eucarióticas; portanto, drogas antivirais, antifúngicas e anti-helmínticas também devem afetar as células eucarióticas.
4. Resistência a drogas é a falta de suscetibilidade, por parte do micro-organismo, ao agente quimioterápico. A resistência pode se desenvolver quando os micro-organismos são constantemente expostos a um agente antimicrobiano. Formas de se minimizar o desenvolvimento de micro-organismos resistentes a drogas incluem o uso moderado dos agentes antimicrobianos; seu uso correto de acordo com a prescrição médica; ou a administração simultânea de duas ou mais drogas.

5. O uso simultâneo de dois agentes pode prevenir o desenvolvimento de cepas resistentes de micro-organismos, se beneficiar do efeito sinérgico das drogas, proporcionar terapia até que o diagnóstico seja feito e diminuir a toxicidade das drogas individuais pela redução de suas dosagens. Um problema que pode resultar do uso simultâneo de dois agentes é o efeito antagônico.
6. **a.** Como a polimixina B, causa vazamento da membrana plasmática.
   b. Interfere na tradução.
7. **a.** Inibe a formação de ligação peptídica.
   b. Previne a translocação do ribossomo e do mRNA.
   c. Interfere com a ligação entre o tRNA e o complexo ribossomo--mRNA.
   d. Modifica a conformação da subunidade ribossomal 30S, resultando na leitura incorreta do mRNA.
   e. Previne a formação da subunidade ribossomal 70S.
   f. Previne a liberação do peptídeo nascente do ribossomo.
8. A DNA-polimerase adiciona bases à terminação 3´-OH.
9. **a.** A penicilina inibe a síntese da parede celular bacteriana. A equinocandina inibe a síntese da parede celular fúngica.
   b. O imidazol interfere com a síntese da membrana citoplasmática fúngica. A polimixina B degrada qualquer membrana plasmática.

Múltipla escolha

1. b **6.** d
2. a **7.** e
3. a **8.** b
4. b **9.** c
5. a **10.** d

Capítulo 21

Revisão

1. As bactérias normalmente entram por aberturas inaparentes na pele. Patógenos fúngicos (exceto os subcutâneos) frequentemente crescem na própria pele. Infecções virais da pele (exceto verrugas e herpes simples) com frequência ganham acesso ao organismo pelo trato respiratório.
2. *Staphylococcus aureus*; *Streptococcus pyogenes*.
3.

4.

Agente etiológico	Sintomas clínicos	Modo de transmissão
P. acnes	Glândulas sebáceas infectadas	Contato direto
S. aureus	Folículos pilosos infectados	Contato direto
Papovavírus	Tumor benigno	Contato direto
Herpesvírus	Erupção vesicular	Via respiratória
Herpesvírus	Erupção recorrente	Contato direto
Paramixovírus	Erupção papular – manchas de Koplik	Via respiratória
Togavírus	Erupção macular	Via respiratória

5. O teste determina a suscetibilidade feminina à rubéola. Se o teste for negativo, ela é suscetível à doença. Se ela adquirir a doença durante a gravidez, o feto pode se tornar infectado. Uma mulher suscetível deve ser vacinada.
6.

Sintomas	Doença
Manchas de Koplik	Sarampo
Erupção macular	Sarampo
Erupção vesicular	Varicela
Erupção de machas pequenas	Rubéola
Pequenas feridas	Herpes labial
Úlcera na córnea	Ceratoconjuntivite

7. O sistema nervoso central pode ser invadido após um episódio de ceratoconjuntivite, o que resulta em encefalite.
8. Vírus do sarampo, caxumba e rubéola atenuados.
9. O paciente tem sarna, uma infestação de ácaros na pele. A sarna é tratada com o inseticida permetrina ou hexacloreto gama-benzeno. A presença de artrópodes de seis pernas (insetos) indica pediculose (piolhos).

Múltipla escolha

1. c **6.** d
2. d **7.** e
3. b **8.** d
4. c **9.** a
5. d **10.** d

Capítulo 22

Revisão

1. Os sintomas do tétano não são devidos ao crescimento bacteriano (infecção e inflamação) e sim a uma neurotoxina.

2. **a.** Vacinação com o toxoide tetânico.
b. Imunização com anticorpos antitoxina tetânica.

3. "Limpeza inapropriada", porque o *C. tetani* é encontrado em solos que podem contaminar um ferimento. "Perfuração profunda", pois provavelmente é anaeróbico. "Sem sangramento", porque o fluxo sanguíneo garante um ambiente aeróbico e também alguma limpeza mecânica.

4. Etiologia – Picornavírus (poliovírus).
Transmissão – Ingestão de água contaminada.
Sintomas – Dores de cabeça, dores de garganta, febre, náusea; raramente causa paralisia.
Prevenção – Tratamento de esgotos.
Estas vacinações podem prover imunidade ativa adquirida artificialmente, uma vez que causam a formação de anticorpos. Contudo, elas não previnem ou revertem danos aos nervos.

5.

Agente causador	População suscetível	Transmissão	Tratamento
N. meningitidis	Crianças; recrutas militares	Respiratória	Penicilina
H. influenzae	Crianças	Respiratória	Rifampina
S. pneumoniae	Crianças; idosos	Respiratória	Penicilina
L. monocytogenes	Qualquer pessoa	Alimentos contaminados	Penicilina
C. neoformans	Pessoas imunossuprimidas	Respiratória	Anfotericina B

6.

7. Tratamento pós-exposição – imunização passiva com anticorpos seguida de imunização ativa com HDCV. Tratamento pré-exposição – imunização ativa com HDCV.
Após exposição à raiva, anticorpos são imediatamente necessários para inativar o vírus. A imunização passiva fornece esses anticorpos. A imunização ativa proporciona anticorpos por um período mais longo, mas eles não são formados imediatamente.

8.

Doença	Etiologia	Transmissão	Sintomas	Tratamento
Encefalite por arbovírus	Togavírus, arbovírus	Mosquitos (*Culex*)	Dor de cabeça, febre, coma	Soro imune
Tripanossomíase africana	*T. b. gambiense, T. b. rhodesiense*	Mosca Tsé-tsé	Diminuição da atividade física e acuidade mental	Suramm; melarsoprol
Botulismo	*C. botulinum*	Ingestão	Paralisia flácida	Antitoxina
Lepra	*M. leprae*	Contato direto	Áreas insensíveis na pele	Dapsona

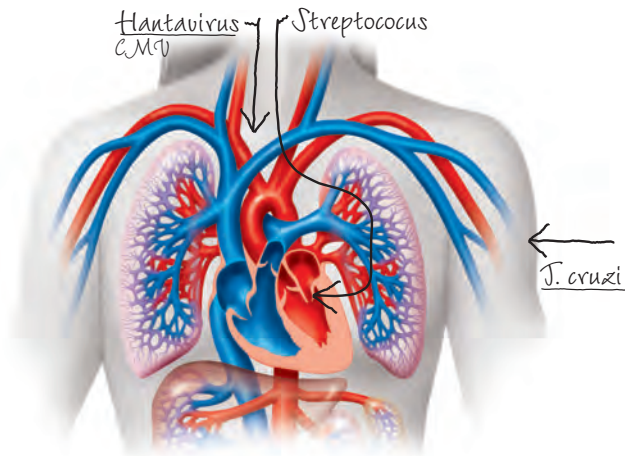
9. O agente causador da doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) é transmissível. Embora existam algumas evidências de que possa ser uma doença hereditária, ela pode ser transmitida por transplantes. As semelhanças com os vírus incluem: (1) os prions não podem ser cultivados por métodos bacteriológicos e (2) os prions não são facilmente observáveis nos pacientes com a doença.

Múltipla escolha

1. a
2. c
3. a
4. b
5. a
6. c
7. b
8. a
9. c
10. a

Capítulo 23

Revisão

1.

2.

Doença	Agente causador	Condições predisponentes
p.s.	*S. pyogenes*	Aborto ou parto
s.b.e.	Estreptococos α-hemolíticos	Lesões preexistentes
a.b.e.	*S. aureus*	Válvulas cardíacas anormais
r.f. Str.	*S. pyogenes*	Autoimunidade

3. Todas são doenças causadas por riquétsias transmitidas por vetor. Elas diferem umas das outras por (1) agentes etiológicos, (2) vetores, (3) severidade e mortalidade e (4) incidência (p. ex., epidêmica, esporádica).

4.

Agente causador	Vetor	Tratamento
Plasmodium	*Anopheles*	Derivados de quinina
Flavivirus	*Aedes aegypti*	Nenhum
Flavivirus	*Aedes aegypti*	Nenhum
Borrelia	Carrapatos moles	Tetraciclina
Leishmania	Mosquitos de areia	Antimônio

5.

Doença	Agente causador	Transmissão	Reservatório
Tularemia	*Francisella tularensis*	Abrasões na pele, ingestão, inalação, mordidas	Coelhos
Brucelose	*Brucella* spp.	Ingestão de leite, contato direto	Gado
Antraz	*Bacillus anthracis*	Abrasões na pele, ingestão, inalação	Solo, gado
Doença de Lyme	*Borrelia burgdorferi*	Mordida de carrapatos	Cervos, camundongos
Erliquiose	*Ehrlichia*	Mordida de carrapatos	Cervos
Doença da inclusão citomegálica	HHV-5	Sangue, saliva	Seres humanos
Peste	*Yersinia pestis*	Picada de mosquitos, inalação	Roedores

6.

Doença	Agente causador	Transmissão	Reservatório	Área endêmica
Esquistossomíase	*Schistosoma* spp.	Penetração ativa da pele	Caramujos aquáticos	Ásia, América do Sul
Toxoplasmose	*Toxoplasma gondii*	Ingestão, inalação	Gatos	Estados Unidos
Doença de Chagas	*Trypanosoma cruzi*	Barbeiro	Roedores	América central

7.

Doença	Reservatório	Etiologia	Transmissão	Sintomas
Doença da arranhadura do gato	Gatos	*Bartonella henselae*	Arranhões; tocar os olhos, pulgas	Inchaço dos linfonodos, febre, mal-estar
Toxoplasmose	Gatos	*Toxoplasma gondii*	Ingestão	Nenhum, infecções congênitas, dano neurológico

8. O tecido gangrenado é anaeróbico e contém nutrientes necessários ao *C. perfringens*.

9. A mononucleose infecciosa é causada pelo vírus EBV e é transmitida por secreções orais.

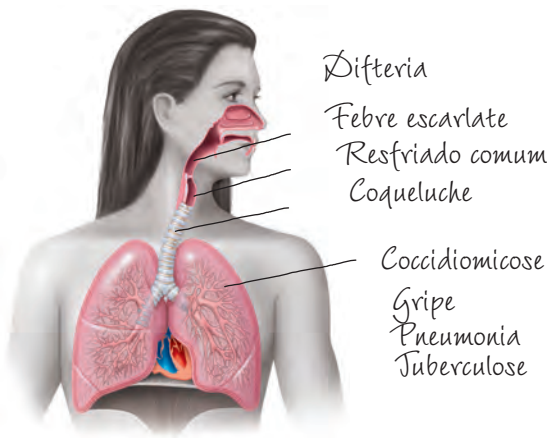
Múltipla escolha

1. e
2. b
3. d
4. c
5. a
6. e
7. a
8. c
9. c
10. c

Respostas

Capítulo 24

Revisão

1.

2. A pneumonia micoplásmica é causada pela bactéria *Mycoplasma pneumoniae*. As pneumonias micoplásmicas podem ser tratadas pelo uso de tetraciclinas, ao passo que as pneumonias virais não podem.

3.

Doença	Agente causador	Sintomas
Trato respiratório superior		
Resfriado comum	Coronavírus	Espirros, secreções nasais excessivas, congestão
Trato respiratório inferior		
Pneumonia viral	Diversos vírus	Febre, fôlego curto, dores no peito
Gripe	Influenzavírus	Calafrios, febre, dor de cabeça, dores musculares
RSV	Vírus respiratório sincicial	Tosse, chiadeira

A amantadina é usada para o tratamento da gripe; o palivizumab, para o tratamento de RSV com risco à vida.

4.

Doença	Sintomas
Faringite estreptocócica	Faringite e tonsilite
Febre escarlate	Erupção e febre
Difteria	Membrana através da garganta
Coqueluche	Tosse paroxismal
Tuberculose	Tosse, tubérculos
Pneumonia pneumocócica	Pulmões avermelhados, febre
Pneumonia por *H. influenzae*	Similar à pneumonia pneumocócica
Pneumonia por clamídia	Febre baixa, tosse e dores de cabeça
Otite média	Dor de ouvido
Legionelose	Febre e tosse
Psitacose	Febre e dor de cabeça
Febre Q	Calafrios e dores no peito
Epiglotite	Epiglote inflamada e com abscessos
Melioidose	Pneumonia

Veja Doenças em Foco 24.1, 24.2 e 24.3 para completar a tabela.

5. A inalação de um grande número de esporos de *Aspergillus* e *Rhizopus* pode causar infecção em pessoas imunossuprimidas, com câncer ou diabete.

6. Não. Muitos organismos diferentes (bactérias gram-positivas, gram-negativas e vírus) podem causar pneumonias. Cada um desses micro-organismos é suscetível a diferentes agentes antimicrobianos.

7.

Doença	Áreas endêmicas nos Estados Unidos
Histoplasmose	Estados adjacentes aos rios Mississipi e Ohio
Coccidioidomicose	Sudoeste norte-americano
Blastomicose	Mississipi
Pneumocistose	Ubíquo

Veja Doenças em Foco 24.3 para completar a tabela.

8. No teste da tuberculina, derivados de proteína purificada (PPD, de *purified protein derivative*) de *M. tuberculosis* são injetados na pele. Inchaço e vermelhidão na área ao redor da injeção são indicativos de uma infecção ativa ou imunidade à tuberculose.

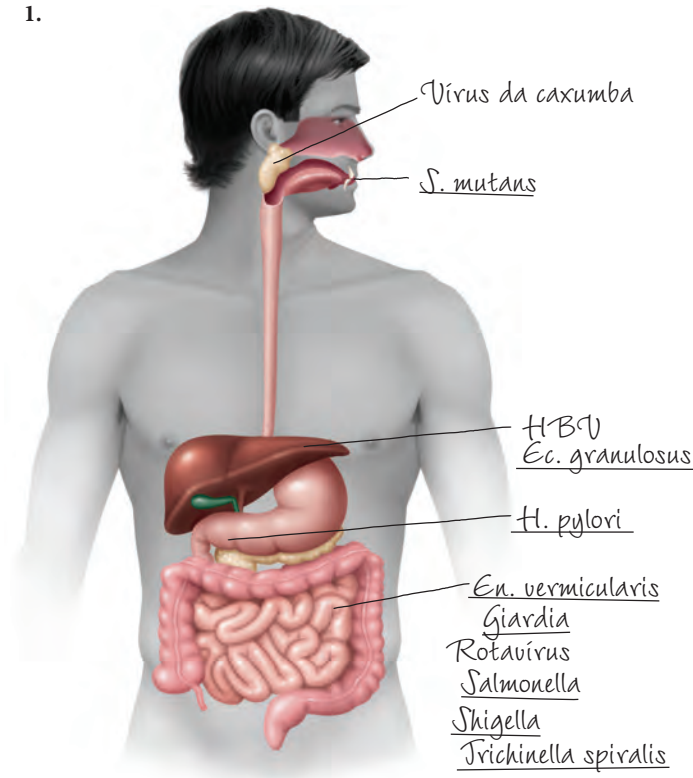
9. **a.** *Staphylococcus aureus*
b. *Streptococcus pyogenes*
c. *S. pneumoniae*
d. *C. diphtheriae*
e. *Mycobacterium tuberculosis*
f. *Moraxella catarrhalis*
g. *Bordetella pertussis*
h. *Burkholderia pseudomallei*
i. *Legionella pneumophila*
j. *Haemophilus influenzae*
k. *Chlamydophila psittaci*
l. *Coxiella burnetii*
m. *Mycoplasma pneumoniae*

Múltipla escolha

1. a
2. c
3. e
4. a
5. c
6. b
7. a
8. e
9. b
10. d

Capítulo 25

Revisão

1.

2.

Doença	Alimento suspeito	Sintomas
Intoxicação alimentar estafilocócica	Alimento não cozido antes da ingestão	Vômito e diarreia
Shigelose	Água contaminada	Sangue e muco nas fezes
Salmonelose	Carne de aves; água contaminada	Febre, vômito e diarreia
Cólera	Água contaminada	Fezes aquosas
Diarreia do viajante	Água contaminada	Vômito e diarreia

Veja Doenças em Foco 25.2 para completar a tabela.

3.

Agente causador	Alimento suspeito	Prevenção
V. parahaemolyticus	Ostras, camarões	Cozimento
V. vulnificus	Contato com águas costeiras	
E. coli enterotoxigênica	Água, vegetais	Cozimento
E. coli enteroinvasiva	Água, vegetais	Cozimento
E. coli entero-hemorrágica	Brotos de alfafa, tomates	Cozimento
C. jejuni	Frango	Cozimento
Y. enterocolitica	Carne, leite	Cozimento
C. perfringens	Carne	Refrigeração após o cozimento
B. cereus	Pratos com arroz	Refrigeração após o cozimento

Veja Doenças em Foco 25.2 para completar a tabela.

4. Certas cepas de *E. coli* podem produzir uma enterotoxina ou invadir o epitélio do intestino grosso.

5. Toxina produzida por fungos. Veja as páginas 729-730.

6. Todos os quatro são causados por protozoários. As infecções são adquiridas por ingestão de água contaminada pelos protozoários. A giardíase é caracterizada por diarreia prolongada. A disenteria amebiana é a mais severa das diarreias, com sangue e muco nas fezes. *Cryptosporidium* e *Cyclospora* produzem doença grave em pessoas com deficiências imunológicas.

7. **Intoxicações alimentares:** Os micro-organismos devem crescer nos alimentos desde o momento de sua preparação até seu consumo. Isso normalmente ocorre quando os alimentos são guardados sem refrigeração ou embalados de forma inapropriada. Os agentes etiológicos (*Staphylococcus aureus* ou *Clostridium botulinum*) devem produzir toxinas. Tempo para o surgimento dos sintomas: 1 a 48 horas. Duração: alguns dias. Tratamento: agentes antimicrobianos não são eficazes. Os sintomas do paciente devem ser tratados.

Infecções alimentares: Micro-organismos viáveis devem ser ingeridos com a água ou os alimentos. Os organismos podem estar presentes durante a preparação do alimento e sobreviver ao processo de cozimento, ou ser inoculados mais tarde, pela manipulação do alimento. Os agentes etiológicos normalmente são bactérias gram-negativas (*Salmonella, Shigella, Vibrio* e *Escherichia*) que produzem endotoxinas. O *Clostridium perfringens* é uma bactéria gram-positiva que causa infecção alimentar. Tempo para o surgimento dos sintomas: 12 horas a 2 semanas. Duração: mais longa que a da intoxicação alimentar, uma vez que os micro-organismos estão se multiplicando no paciente. Tratamento: reidratação.

8.

Doença	Sítio	Sintomas
Caxumba	Glândulas parótidas	Inflamação das glândulas parótidas e febre
Hepatite A	Fígado	Anorexia, febre e diarreia
Hepatite B	Fígado	Anorexia, febre, dores nas juntas e icterícia
Gastrenterites virais	Trato gastrintestinal inferior	Náuseas, diarreia e vômito

Veja Doenças em Foco 25.3 e 25.4 para completar esta questão.

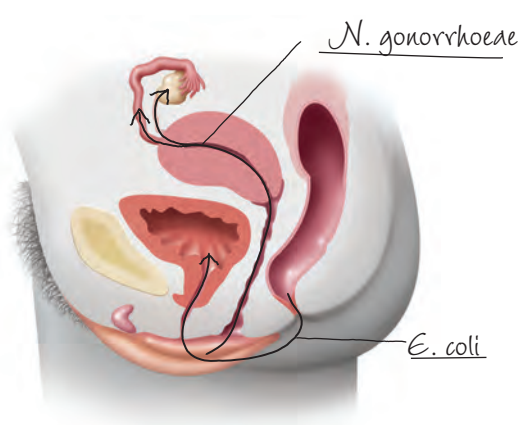
9. Cozimento completo das carnes. Eliminação das fontes de contaminação do gado e de porcos.

Múltipla escolha

1. d
2. e
3. e
4. c
5. e
6. b
7. b
8. e
9. a
10. d

Capítulo 26

Revisão

1.

2. Infecções do trato urinário podem ser transmitidas por higiene pessoal inapropriada e também por contaminação durante procedimentos médicos. Elas frequentemente são causadas por patógenos oportunistas.
3. A proximidade entre o ânus e a uretra e o comprimento relativamente curto da uretra podem permitir a contaminação da bexiga em mulheres. Fatores predisponentes para a cistite em mulheres incluem infecções gastrintestinais e infecções uretrais e vaginais.
4. A *Escherichia coli* causa aproximadamente 75% das infecções. Vias de entrada incluem o trato urinário inferior ou infecções sistêmicas.
5.

Doença	Sintomas	Diagnóstico
Vaginose bacteriana	Odor de peixe	Odor, pH, células indicadoras
Gonorreia	Micção dolorida	Isolamento de *Neisseria*
Sífilis	Cancro	FTA-ABS
DIP	Dor abdominal	Cultura do patógeno
UNG	Uretrite	Ausência de *Neisseria*
LGV	Lesão, inchaço dos linfonodos	Observação de *Chlamydia* nas células
Cancroide	Úlcera inchada	Isolamento de *Haemophilus*

Veja Doenças em Foco 26.2 e 26.3 para completar a tabela.

6. Trasmissão – Água; penetração através de ferimentos.
   Atividades – Contato com água; contato com animais ou locais infestados por roedores.
   Etiologia – *Leptospira interrogans*
7. Sintomas – Sensação de ardor, vesículas, micção dolorida.
   Etiologia – Vírus herpes simples tipo 2 (às vezes tipo 1). Quando as lesões não estão presentes, o vírus está latente e não comunicante.
8. *Candida albicans* – Prurido severo; descarga grossa e amarelada, com aspecto de queijo.
   Trichomonas vaginalis – Descarga amarela e profusa, de odor desagradável.
9.

Doença	Prevenção de doença congênita
Gonorreia	Tratamento dos olhos do recém-nascido
Sífilis	Prevenção e tratamento da doença da mãe
UNG	Tratamento dos olhos do recém-nascido
Herpes genital	Parto por cesariana durante o período de infecção ativa

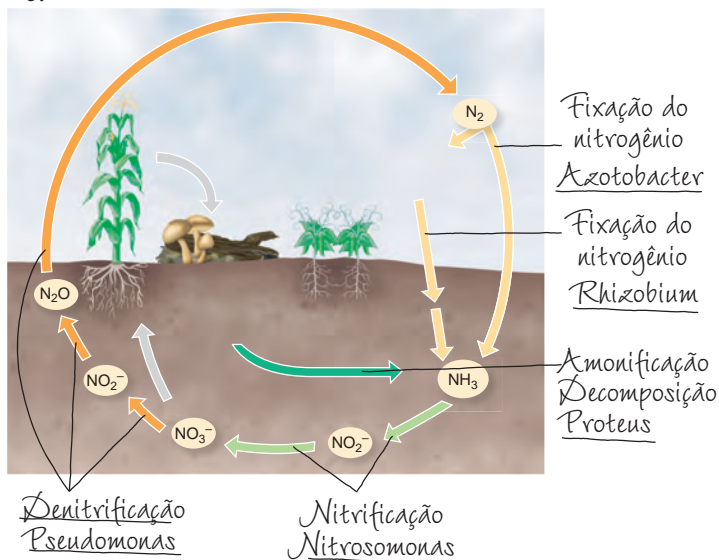
Múltipla escolha

1. b
2. e
3. a
4. c
5. d
6. c
7. c
8. e
9. b
10. a

Respostas

Capítulo 27

Revisão

1. O coala deve ter um órgão que suporta o crescimento de uma grande população de micro-organismos capazes de degradar a celulose.
2. O *Penicillium* deve fazer penicilina para reduzir a competição com bactérias de crescimento mais rápido.
3. **a.** Aminoácidos
   b. SO_4^{2-}
   c. Plantas e bactérias
   d. H_2S
   e. Carboidratos
   f. S^0
4. O fósforo deve estar disponível para todos os organismos.
5.

6. Cianobactérias: com os fungos, as cianobactérias agem como o parceiro fotoautotrófico em um líquen; elas também podem fixar o nitrogênio no líquen. Com *Azolla*, elas fixam nitrogênio.
   Micorrizas: fungos que crescem dentro ou ao redor das raízes de plantas superiores; aumentam a absorção de nutrientes.
   Rhizobium: nos nódulos das raízes de legumes; fixam o nitrogênio.
   Frankia: nos nódulos das raízes de amieiro, roseiras e outras plantas; fixam o nitrogênio.
7. Sedimentação
   Tratamento por floculação
   Filtração em areia (ou em carvão ativado)
   Cloração
   A quantidade de tratamento anterior à cloração vai depender da quantidade de matéria orgânica e inorgânica na água.
8. **a.** 2 **e.** 3
   b. 1 **f.** 2
   c. 2 **g.** 3
   d. 2
9. Biodegradação do esgoto, herbicidas, óleo ou PCBs.

Múltipla escolha

1. a
2. b
3. b
4. b
5. c
6. c
7. b
8. b
9. e
10. c

Capítulo 28

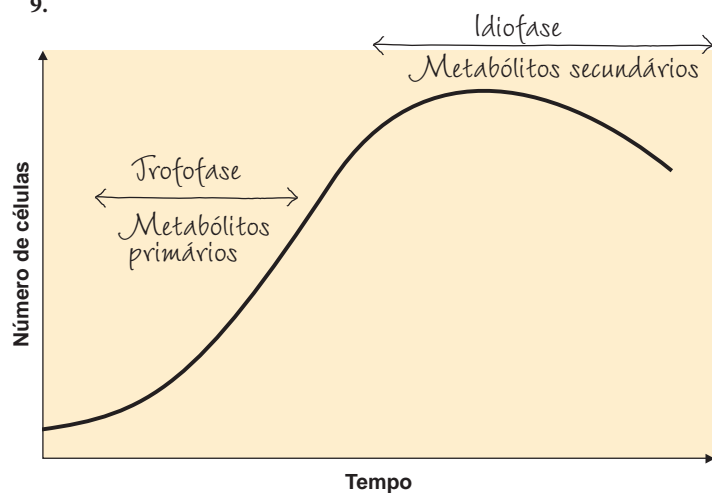
Revisão

1. Microbiologia industrial é a ciência que utiliza micro-organismos para gerar produtos ou executar um processo. A microbiologia industrial gera (1) substâncias químicas como os antibióticos, os quais de outro modo não estariam disponíveis, (2) processos para remover ou detoxificar poluentes, (3) alimentos fermentados que possuem melhor sabor ou maior validade, e (4) enzimas necessárias à manufatura de diversos produtos.
2. O objetivo da esterilização comercial é a eliminação da degradação dos alimentos e de micro-organismos causadores de doenças. O objetivo da esterilização hospitalar é a esterilização completa.
3. O ácido nas amoras irá prevenir o crescimento de alguns micróbios.
4. Leite $\xrightarrow{\text{Bactérias do ácido lático}}$ Coalho + Soro
   Coalho ↓ Queijo; Soro ↓ Dejeto

   Queijos endurecidos são maturados por bactérias do ácido lático que crescem anaerobicamente no interior da massa (coalho). Queijos macios são maturados por fungos que crescem aerobicamente na parte externa da massa.
5. Os nutrientes precisam estar dissolvidos em água; a água também é necessária para a hidrólise. O malte é a fonte de carbono e energia que as leveduras fermentarão para produzir o álcool. O malte contém glicose gerada a partir da ação da amilase sobre o amido, contido nas sementes (cevada).
6. Um biorreator fornece as seguintes vantagens sobre os frascos simples:
   - Volumes maiores de cultura podem ser cultivados.
   - Instrumentação processual pode ser usada para monitoramento de condições ambientais críticas, como pH, temperatura, oxigênio dissolvido e aeração.
   - Sistemas de esterilização e limpeza são instalados no próprio local.
   - Possibilidade de amostragem asséptica e sistemas de coleta de amostras durante o processo.
   - Características melhoradas de aeração e mistura, o que resulta em melhor crescimento microbiano a altas concentrações finais de células.
   - Possibilidade de elevado grau de automação.
   - Melhoria dos processos de reprodutibilidade.

7. (1) Enzimas não geram dejetos perigosos. (2) Enzimas funcionam sob condições razoáveis; p. ex., elas não requerem altas temperaturas ou acidez. (3) O uso de enzimas elimina a necessidade de se usar petróleo na síntese química de solventes como alcoóis e acetona. (4) Enzimas são biodegradáveis. (5) Enzimas não são tóxicas.

8. A produção do álcool etílico a partir do milho; ou de metano a partir do processamento do esgoto. Alcoóis e hidrogênio são produzidos por fermentação; metano é produzido por respiração anaeróbica.

9.

Múltipla escolha

1. c
2. b
3. e
4. c
5. b
6. c
7. e
8. a
9. b
10. a

APÊNDICE A

Vias metabólicas

Figura A.1 Ciclo de Calvin--Benson para o metabolismo fotossintético do carbono. 1 – 3 Inicialmente ocorre a fixação e a redução dos carbonos, gerando o gliceraldeído-3-fosfato e a diidroxiacetona-fosfato, compostos interconversíveis de três carbonos 4. A – D Em média, 2 a cada 12 moléculas de três carbonos são utilizadas na síntese de glicose. 5 Dez a cada 12 moléculas de três carbonos são utilizadas para gerar ribulose-5--fosfato por uma série complexa de reações. 6 A ribulose-5-fosfato é então fosforilada com gasto de ATP, formando ribulose-1,5-difosfato, a molécula aceptora com a qual a sequência começou. (Veja a Figura 5.26, p.142, para a versão simplificada do ciclo de Calvin-Benson.)

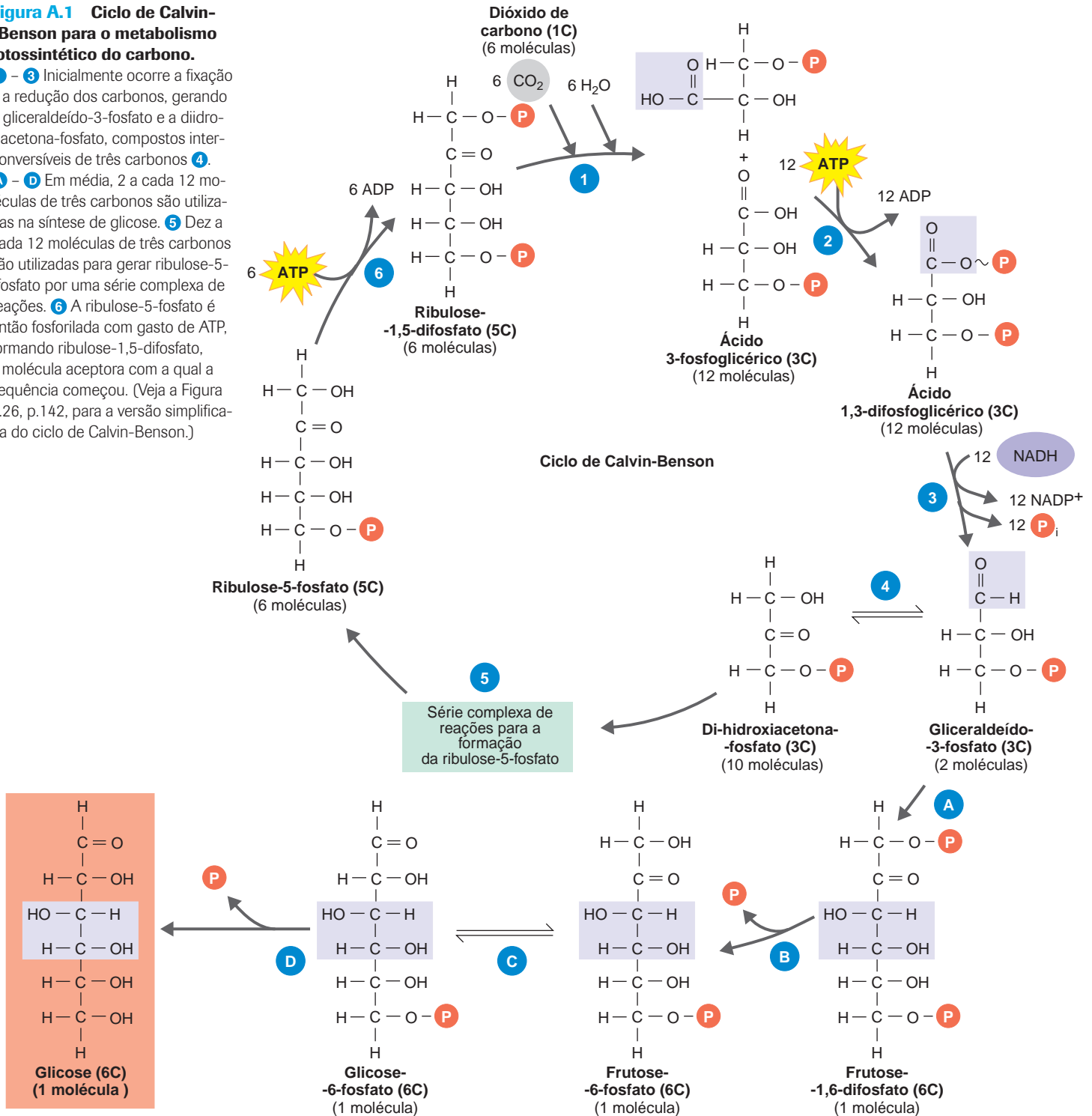
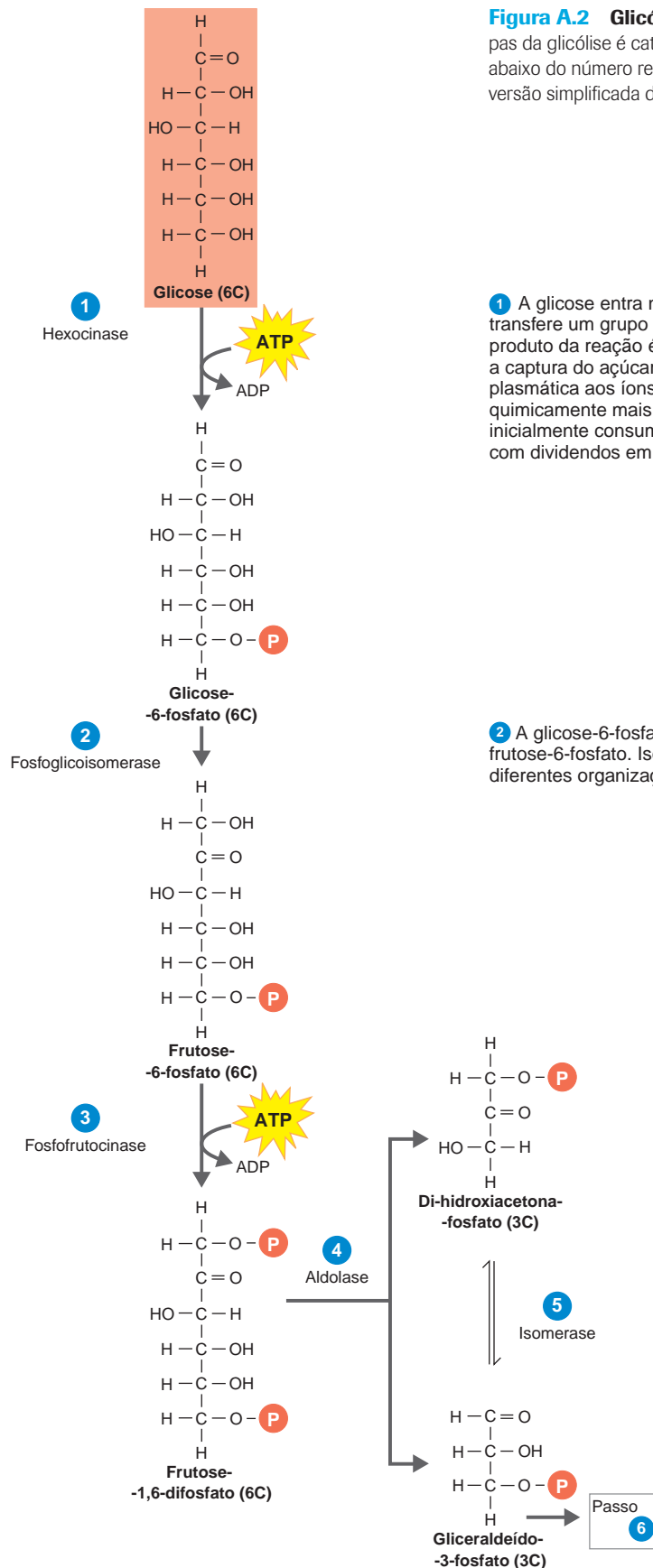



Figura A.2 Glicólise (via de Embden-Meyerhof). Cada uma das dez etapas da glicólise é catalisada por uma enzima específica, cujo nome está relacionado abaixo do número relativo à etapa correspondente. (Veja a Figura 5.12, p. 126, para a versão simplificada da glicólise.)

Glicose (6C)

1 Hexocinase

ATP

ADP

Glicose-6-fosfato (6C)

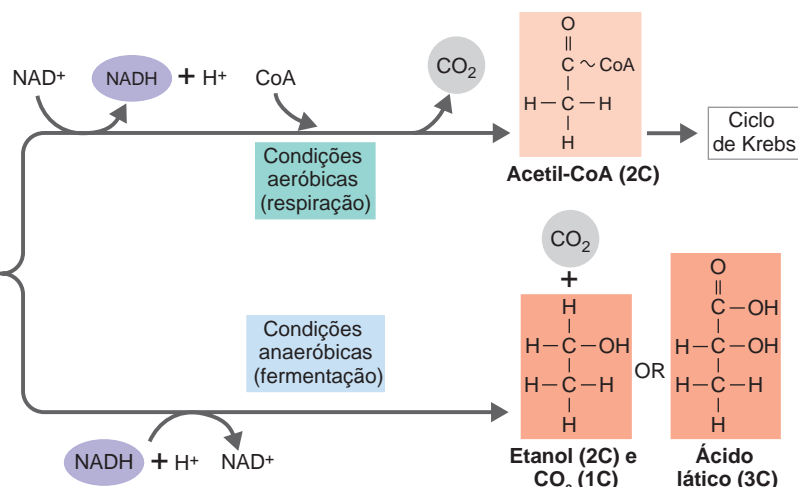
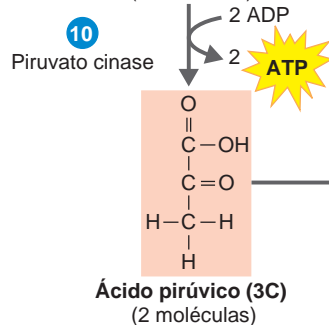
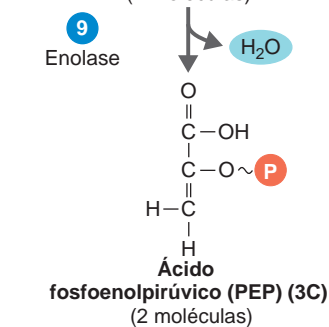
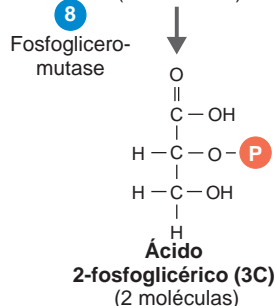
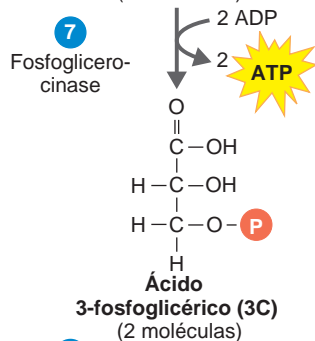
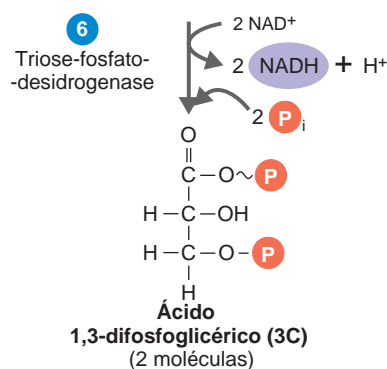
2 Fosfoglicoisomerase

1 A glicose entra na célula e é fosforilada pela enzima hexocinase, que transfere um grupo fosfato do ATP para o carbono de número 6 do açúcar. O produto da reação é a glicose-6-fosfato. A carga elétrica do grupo fosfato permite a captura do açúcar no interior da célula pela impermeabilidade da membrana plasmática aos íons. A fosforilação da glicose também torna a molécula quimicamente mais reativa. Apesar de a glicólise gerar ATP por definição, este é inicialmente consumido na etapa 1, um investimento energético que será pago com dividendos em fases avançadas do processo.

2 A glicose-6-fosfato sofre um rearranjo para se converter em seu isômero, a frutose-6-fosfato. Isômeros apresentam mesmo número e tipo de átomos, mas diferentes organizações estruturais.

3 Nesta etapa, há ainda o investimento de mais uma molécula de ATP na glicólise. Uma enzima transfere o grupo fosfato do ATP para o açúcar, produzindo frutose-1,6-difosfato.

4 Esta é a reação que dá o nome ao processo de glicólise (quebra do açúcar). Uma enzima cliva a frutose-1,6-difosfato em dois açúcares diferentes de três carbonos: gliceraldeído-3-fosfato e di-hidroxiacetona-fosfato. Os dois açúcares são isômeros.

5 A enzima isomerase interconverte os açúcares de três carbonos. A próxima enzima da glicólise utiliza apenas o gliceraldeído-3-fosfato como substrato. Há o deslocamento do equilíbrio entre os dois açúcares de três carbonos na direção do gliceraldeído-3-fosfato, que passa a ser removido com a mesma rapidez em que é produzido.

6 Uma enzima agora catalisa duas reações sequenciais, enquanto mantém o gliceraldeído-3-fosfato em seu sítio ativo. Primeiramente, o açúcar é oxidado no carbono de número 1, e o NAD^+ é reduzido, resultando na formação de NADH + H^+. Posteriormente, a enzima acopla a esta reação a geração de uma ligação fosfato altamente energética com o carbono 1 do substrato oxidado. A fonte do fosfato é o fosfato inorgânico, sempre presente na célula. Como produtos, a enzima libera NADH + H^+ e ácido 1,3-difosfoglicérico. Observe na figura que a nova ligação fosfato está representada por uma ligação de alta energia (~), indicando que esta é ao menos tão energética quanto as ligações fosfato do ATP.

7 Neste ponto, a glicólise produz ATP. O grupo fosfato, com sua ligação de alta energia, é transferido do ácido 1,3-difosfoglicérico para o ADP. Para cada molécula de glicose que inicia a glicólise, o passo 7 produz duas moléculas de ATP, uma vez que todos os produtos são duplicados após o passo de quebra do açúcar (passo 4). Dois ATPs foram inicialmente gastos para que o açúcar pudesse ser quebrado, obviamente. O saldo de ATP permanece agora zerado. Ao final do passo 7, a glicose foi convertida em duas moléculas de ácido 3-fosfoglicérico.

8 Posteriormente, uma enzima reposiciona o grupo fosfato remanescente do ácido 3-fosfoglicérico para formar o ácido 2-fosfoglicérico. Isto prepara o substrato para a próxima reação.

9 Uma enzima forma uma ligação dupla no substrato pela extração de uma molécula de água do ácido 2-fosfoglicérico, para a formação do ácido fosfoenolpirúvico. Como resultado, os elétrons do substrato sofrem um rearranjo, de modo a tornar a ligação fosfato remanescente muito instável.

10 A última reação da glicólise produz outra molécula de ATP pela transferência do grupo fosfato do ácido fosfoenolpirúvico para o ADP. Uma vez que este passo ocorre duas vezes para cada molécula de glicose, o saldo de ATP apresenta agora um ganho de dois ATPs. A glicólise de uma molécula de glicose resulta, portanto, em duas moléculas de ácido pirúvico, duas moléculas de NADH + H^+ e duas moléculas de ATP. Cada molécula de ácido pirúvico pode agora ser submetida à respiração ou fermentação.

Figura A.3 Via da pentose-fosfato. Esta via, que opera simultaneamente à glicólise, oferece uma rota alternativa para a oxidação da glicose e desempenha um papel na síntese de moléculas biológicas, de acordo com as necessidades da célula. Os possíveis destinos para os vários intermediários estão demonstrados em azul. (Veja o Capítulo 5, p. 125 a 127.)

Apêndices

Figura A.4 **Via de Entner-Doudoroff.** Esta via é alternativa à glicólise para a oxidação da glicose em ácido pirúvico. (Veja o Capítulo 5, p. 127.)

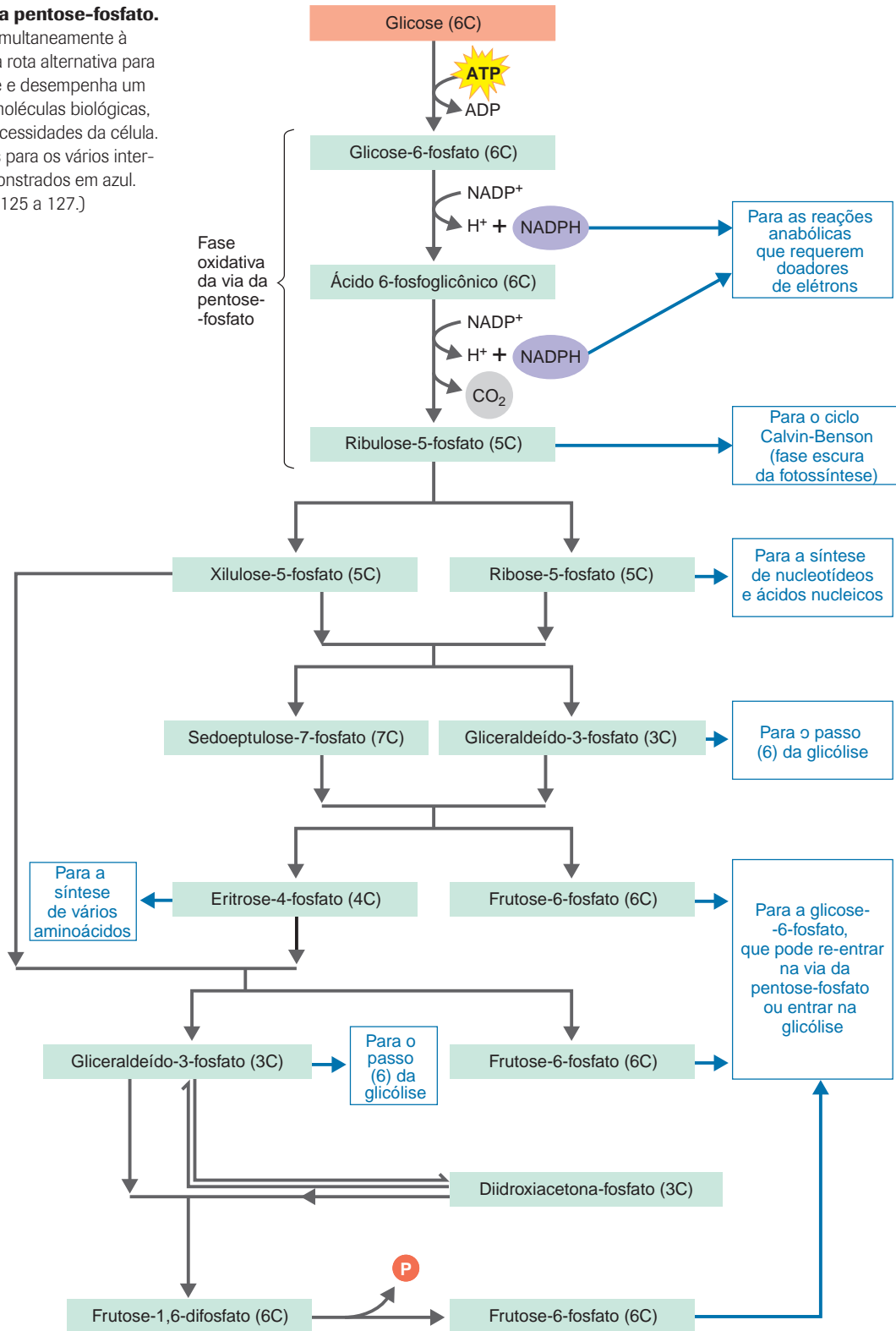
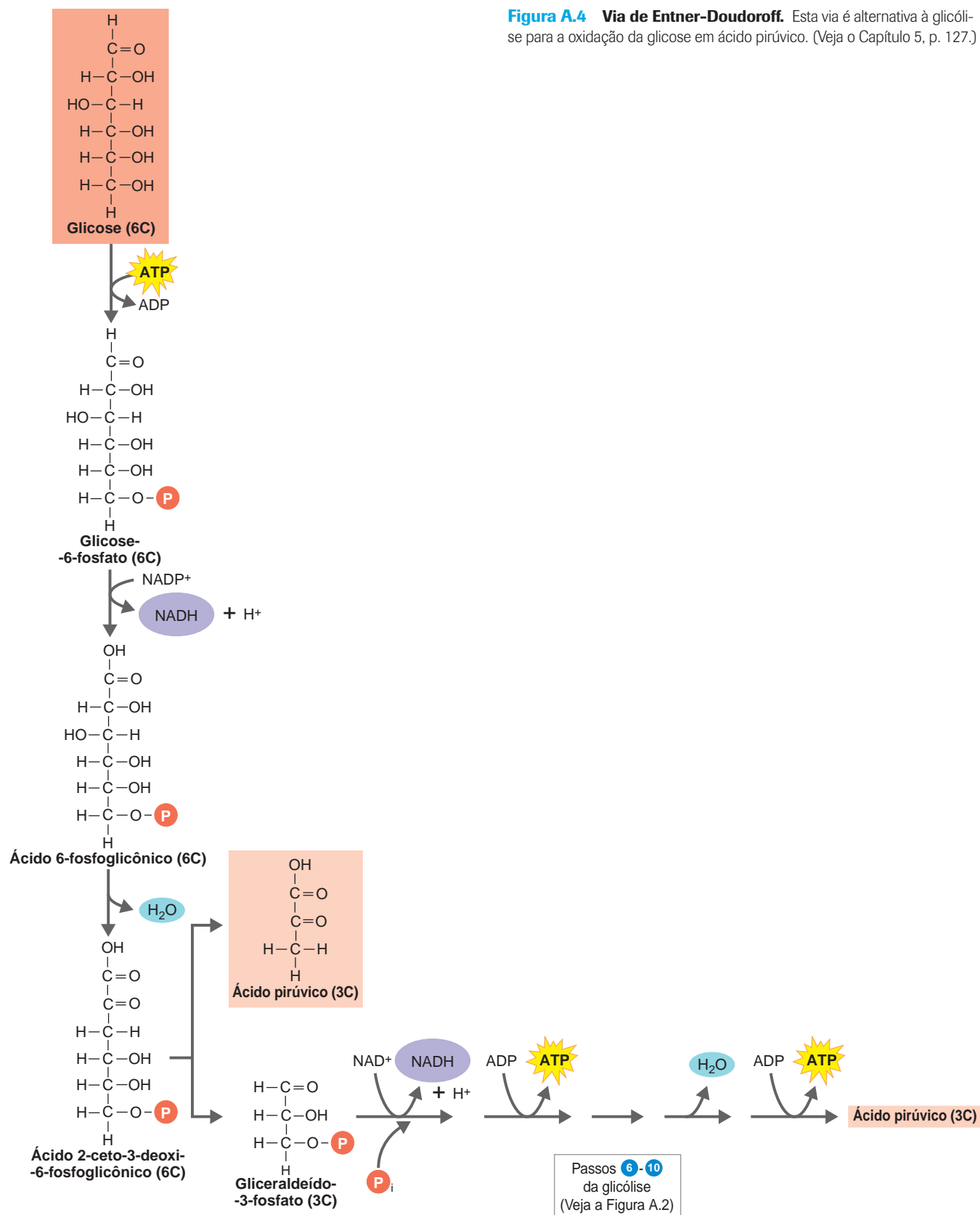



Figura A.5 Ciclo de Krebs. Veja a Figura 5.13, p. 128, para uma versão simplificada.

1 A acetil-CoA adiciona o seu fragmento acetil de dois carbonos (*rosa*) ao ácido oxaloacético, um composto de quatro carbonos. A ligação instável da acetil-CoA é quebrada à medida que o ácido oxaloacético desloca a coenzima e se liga ao grupo acetil. O produto é o ácido cítrico, um composto de seis carbonos. A CoA torna-se livre para se ligar a outro fragmento de dois carbonos derivado do ácido pirúvico.

2 Uma molécula de água é removida e outra é adicionada novamente. O resultado final é a conversão do ácido cítrico em seu isômero, o ácido isocítrico.

3 O substrato perde uma molécula de CO_2 (*cinza*), e o composto remanescente de cinco carbonos é oxidado, reduzindo NAD^+ em NADH + H^+.

4 O Co_2 (*cinza*) é perdido; o composto remanescente de quatro carbonos é oxidado pela transferência de elétrons para o NAD^+ para a formação de NADH + H^+, ligando-se posteriormente à CoA de maneira instável.

5 A fosforilação no nível do substrato ocorre neste passo. A CoA é deslocada por um grupo fosfato, que é então transferido ao GDP para a formação de trifosfato de guanosina (GTP). O GTP é similar ao ATP, sendo este último formado a partir da doação de um grupo fosfato do GTP para o ADP.

6 Em outro passo oxidativo, dois hidrogênios são transferidos ao FAD para formar $FADH_2$. A função desta coenzima é semelhante à do NADH + H^+, ainda que $FADH_2$ armazene menos energia.

7 Nesta etapa, as ligações do substrato são rearranjadas pela adição de uma molécula de água.

8 O último passo oxidativo produz outra molécula de NADH + H^+ e regenera o ácido oxaloacético, que aceita novamente fragmentos de dois carbonos da acetil-CoA para a realização de novos ciclos.

APÊNDICE B

Expoentes, notação exponencial, logaritmos e tempo de geração

Expoentes e notação exponencial

Os números muito grandes e os muito pequenos, como 4.650.000.000 e 0,00000032, são problemáticos para trabalhar. É mais conveniente expressar esses números em notação exponencial – into é, como uma potência de 10. Por exemplo, 4.65×10^9 está na notação exponencial padrão, ou **notação científica**: 4,65 é o *coeficiente*, e 9 é a potência ou *exponente*. Na notação exponencial padrão, o coeficiente é sempre um número entre 1 e 10, e o expoente pode ser positivo ou negativo.

Para alterar um número para a notação exponencial, siga duas etapas. Primeiro, determine o coeficiente, movendo o ponto decimal até que exista apenas um dígito diferente de zero à esquerda do mesmo. Por exemplo,

0,0000003 2

O coeficiente é 3,2. Segundo, determine o expoente, contando o número de casas que você moveu o ponto decimal. Se você o movimentou para a esquerda, o expoente é positivo. Se você o moveu para a direita, o expoente é negativo. Por exemplo, você moveu o ponto decimal sete casas para a direita, de modo que o expoente é –7. Assim,

$$0{,}00000032 = 3{,}2 \times 10^{-7}$$

Agora, suponha que você esteja trabalhando com um número grande, em vez de um número muito pequeno. As mesmas regras se aplicam, mas o valor exponencial será positivo em vez de negativo. Por exemplo,

$$4.650.000.000 = 4{,}65 \times 10^{9}$$

Para multiplicar números escritos em notação exponencial, multiplique os coeficientes e *adicione* os expoentes. Por exemplo,

$$(3 \times 10^4) \times (2 \times 10^3) = (3 \times 2) \times (10^{4+3}) = 6 \times 10^7$$

Para dividir, divida o coeficiente e subtraia os expoentes. Por exemplo,

$$\frac{3 \times 10^4}{2 \times 10^3} = \frac{3}{2} \times 10^{4-3} = 1{,}5 \times 10^1$$

Os microbiologistas utilizam a notação exponencial em muitas situações. Por exemplo, a notação exponencial é usada para descrever o número de micro-organismos em uma população. Esses números frequentemente são muito grandes (veja o Capítulo 6). Outra aplicação da notação exponencial é para expressar concentrações de substâncias químicas em uma solução – substâncias químicas como os componentes do meio (Capítulo 6), os desinfetantes (Capítulo 7) ou os antibióticos (Capítulo 20). Esses números frequentemente são muito pequenos. A conversão de uma unidade de medida para outra no sistema métrico requer a multiplicação ou a divisão por uma potência de 10, que é mais fácil de realizar em notação exponencial.

Logaritmos

O **logaritmo** (**log**) é a potência para a qual uma base numérica é elevada para produzir um determinado número. Normalmente trabalhamos com logaritmos na base 10, abreviados como $\log_{10}$. O primeiro passo para descobrir o $\log_{10}$ de um número é escrevê-lo em notação exponencial. Caso o coeficiente seja exatamente 1, o $\log_{10}$ é simplesmente igual ao expoente. Por exemplo

$$\log_{10} 0{,}00001 = \log_{10} (1 \times 10^{-5}) = -5$$

Caso o coeficiente não seja 1, como na maioria dos casos, a função logaritmo de uma calculadora deve ser utilizada para determinar o logaritmo.

Os microbiologistas utilizam logs para calcular níveis de pH e para representar graficamente o crescimento de populações microbianas em cultura (Veja o Capítulo 6).

Calculando o tempo de geração

À medida que as células se dividem, a população aumenta exponencialmente. Numericamente, isto é igual a 2 (porque uma célula se divide em duas) elevado ao número de vezes que a célula se dividiu (gerações).

$$2^{\text{número de gerações}}$$

Para calcular a concentração final de células:

$$\text{Número inicial de células} \times 2^{\text{número de gerações}} = \text{número de células}$$

Por exemplo, se 5 células pudessem se dividir 9 vezes, o resultado seria

$$5 \times 2^9 = 2.560 \text{ células}$$

Para calcular o número de gerações de uma cultura, o número de células deverá ser convertido em logaritmo. Valores-padrão de logaritmos são baseados em 10. O log de 2 (0,301) é utilizado porque uma célula se divide em duas.

$$\text{Número de gerações} = \frac{\text{Log de células (final)} - \text{Log de células (inicial)}}{0{,}301}$$

Para calcular o tempo de geração de uma população:

$$\frac{60 \text{ min/h} \times \text{horas}}{\text{número de gerações}} = \text{min/geração}$$

Como exemplo, vamos calcular o tempo de geração de 100 células bacterianas em crescimento por cinco horas e com produção de 1.720.320 células:

$$\frac{\log 1.720.320 - \log 100}{0{,}301} = 14 \text{ gerações}$$

$$\frac{60 \text{ min/h} \times 5 \text{ horas}}{14 \text{ gerações}} = 21 \text{ min/geração}$$

Uma aplicação prática para o cálculo é a determinação do efeito em cultura de um novo conservante de alimentos. Suponha que 900 micro-organismos da mesma espécie foram cultivados sob as mesmas condições do último exemplo, exceto pelo fato de que o conservante foi adicionado ao meio de cultura. Após 15 horas, haviam 3.276.800 células. Calcule o tempo de geração e decida se o conservante inibiu o crescimento.

Resposta: 75 min/geração. O conservante inibiu o crescimento.

APÊNDICE C

Métodos para coleta de amostras clínicas

Para diagnosticar uma doença, frequentemente é necessária a obtenção de uma amostra de um material que possa conter o micro-organismo patogênico. As amostras devem ser coletadas assepticamente. Os recipientes das amostras devem ser identificados com o nome do paciente, o número do quarto (caso esteja hospitalizado), a data, o horário e os medicamentos administrados. As amostras devem ser transportadas imediatamente ao laboratório para cultura. Atrasos no transporte podem determinar o crescimento de alguns organismos e a produção de substâncias tóxicas, que podem matar outros organismos. Patógenos tendem a ser fastidiosos e morrem quando não são mantidos em condições ambientais ótimas.

No laboratório, amostras de tecidos infectados são cultivadas em meios diferenciais e seletivos na tentativa de isolar e identificar quaisquer patógenos ou organismos que normalmente não são encontrados em associação com estes tecidos.

Apêndices

Precauções universais*

Os seguintes procedimentos devem ser utilizados por todos os profissionais da saúde, inclusive estudantes, cujas atividades envolvam o contato com pacientes, sangue ou outros fluidos corporais. Esses procedimentos foram criados para minimizar os riscos de transmissão de HIV ou Aids em um ambiente de cuidados à saúde, mas a adesão às orientações minimiza a transmissão de *todas* as infecções hospitalares.

1. Luvas devem ser utilizadas para tocar sangue ou fluidos corporais, mucosas e pele lesionada ou para manusear itens ou superfícies sujas de sangue ou fluidos corporais. As luvas devem ser trocadas após o contato com cada paciente.
2. As mãos e outras superfícies cutâneas devem ser lavadas imediatamente e de modo intenso se contaminadas com sangue ou fluidos corporais. As mãos devem ser lavadas imediatamente após a remoção das luvas.
3. Máscaras e equipamentos protetores para os olhos ou a face devem ser utilizados durante procedimentos que possam gerar gotículas de sangue ou de outros fluidos corporais.
4. Uniformes ou aventais devem ser utilizados em procedimentos que possam gerar respingos de sangue ou de outros fluidos corporais.
5. Para prevenir acidentes com agulhas, as seringas não devem ser re-encapadas, propositalmente dobradas ou quebradas, ou manuseadas de qualquer outra maneira. Após a utilização de seringas e agulhas descartáveis, lâminas de bisturi e outros itens afiados, estes devem ser descartados em recipientes resistentes às perfurações.
6. Embora a saliva não tenha sido associada à transmissão do HIV, peças bucais, reanimadores e outros dispositivos de ventilação devem estar disponíveis para uso em áreas onde a reanimação de pacientes possa ser necessária. A reanimação emergencial por respiração boca-a-boca deve ser minimizada.
7. Profissionais da saúde que apresentam lesões exsudativas ou dermatites edematosas devem evitar qualquer contato direto com os pacientes, bem como o manuseio de equipamentos destinados ao cuidado deles.
8. Profissionais da saúde gestantes aparentemente não apresentam maior risco de infecção por HIV quando comparadas às profissionais da saúde não gestantes; entretanto, caso uma profissional da saúde desenvolva a infecção por HIV durante a gestação, a criança apresentará risco de infecção. Em razão desse risco, profissionais da saúde gestantes devem estar especialmente familiarizadas e aderir estritamente às precauções para minimizar o risco de transmissão do HIV.

Instruções para procedimentos específicos de coleta

Cultura de feridas ou abscessos

1. Limpe a área com um *swab* estéril umedecido em salina estéril.
2. Desinfete a área com etanol a 70% ou solução iodada.
3. Se o abscesso não tiver se rompido espontaneamente, o médico deverá abri-lo com o auxílio de um bisturi estéril.
4. Seque o pus superficial.
5. Toque o pus com um *swab* estéril, cuidando para que o tecido circundante não seja contaminado.
6. Recoloque o *swab* em seu recipiente e identifique-o apropriadamente.

Cultura de ouvidos

1. Limpe a pele e o canal auditivo com tintura de iodo a 1%.
2. Toque a área infectada com um *swab* de algodão estéril.
3. Recoloque o *swab* em seu recipiente.

Cultura de olhos

Este procedimento normalmente é realizado por um oftalmologista.

1. Anestesie o olho com uma aplicação tópica de uma solução estéril de anestésico.
2. Lave o olho com uma solução salina estéril.
3. Colete o material da área infectada com o auxílio de um *swab* de algodão estéril. Retorne o *swab* a seu recipiente.

Hemocultura

1. Feche as janelas da sala para evitar contaminações.
2. Limpe a pele no entorno da veia selecionada com um algodão embebido em tintura de iodo a 2%.
3. Remova o iodo seco com uma gaze umedecida em álcool isopropílico a 80%.
4. Drene alguns mililitros de sangue venoso.
5. Faça um curativo asséptico no local da punção.

Urocultura

1. Dê ao paciente um recipiente estéril.
2. Instrua o paciente a desprezar um pequeno volume de urina antes da coleta (para lavar a microbiota transiente da pele) e a coletar uma amostra do jato médio.
3. Uma amostra de urina pode ser armazenada sob refrigeração (4 a 6°C) por até 24 horas.

Cultura de fezes

Para o exame bacteriológico, apenas uma pequena amostra é necessária. Ela pode ser obtida pela inserção de um *swab* estéril no reto ou nas fezes. O *swab* deve ser acondicionado em um tubo contendo meio enriquecido para ser transportado até o laboratório. Para o exame de parasitas, uma pequena amostra pode ser coletada durante a defecação matinal. Esta deve ser acondicionada em meio preservativo (álcool polivinil, glicerol tamponado, salina ou formalina) para exame microscópico de ovos ou parasitas adultos.

Cultura de escarro

1. Uma amostra matinal é mais adequada, uma vez que os micro-organismos terão se acumulado durante o sono do paciente.
2. O paciente deve lavar intensamente a boca para a remoção dos alimentos e da microbiota normal.
3. O paciente deve tossir profundamente e expectorar em um frasco de vidro estéril de boca larga.
4. Deve-se cuidar para que os profissionais da saúde não sejam contaminados.
5. Em casos como a tuberculose, nos quais há pouca produção de escarro, uma aspiração estomacal pode ser necessária.
6. Bebês e crianças tendem a engolir o escarro. Uma amostra fecal pode ter algum valor nesses casos.

* *Fonte*: Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) e Instituto Nacional de Saúde (NIH). *Biossegurança em Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos*. Disponível em www.cdc.gov.

APÊNDICE D

Pronúncia de nomes científicos

Regras de pronúncia

A maneira mais fácil de aprender um conteúdo é conversar sobre ele, e isso requer a pronúncia de nomes científicos. A princípio, os nomes científicos podem parecer difíceis, mas tenha em mente que todas *as sílabas* são pronunciadas. O primeiro requerimento para se falar um nome científico é comunicá-lo.

As regras para a pronúncia de nomes científicos dependem, em parte, da palavra da qual derivam e do som de suas vogais. Apresentamos aqui algumas instruções gerais. As pronúncias frequentemente não seguem as regras, e um uso comum tornou-se "aceitável" para que a derivação do nome pudesse ser determinada. Para muitos nomes científicos existem pronúncias alternativas corretas.

Vogais

Pronuncie todas as vogais em nomes científicos. Duas vogais escritas juntas e pronunciadas como um único som são denominadas *ditongo* (p. ex., o *ou* em *sound*). Um comentário especial sobre as terminações com as vogais *–i* e *–ae* é necessário: Existem duas maneiras alternativas de pronunciar cada uma delas. Neste livro, normalmente pronunciamos um longo *e* (ē) para as terminações *–i*, e um longo *i* (ī) para as terminações *–ae*. O inverso também está correto e em alguns casos é até preferido. Por exemplo, coli normalmente é pronunciado kō′lī.

Consoantes

Quando *c* ou *g* são seguidos por *ae*, *e*, *oe*, *i* ou *y*, apresentam um som suave. Quando seguidos por *a*, *o*, *oi* ou *u*, apresentam um som forte. Quando um *c* duplo é seguido por *e*, *i* ou *y*, é pronunciado como *ks* (p. ex., cocci).

Entonação

A sílaba tônica normalmente é a penúltima ou antepenúltima sílaba.

1. A entonação é na penúltima sílaba:
   a. Quando o nome contém apenas duas sílabas. Exemplo: pes′tis.
   b. Quando a penúltima sílaba é um ditongo. Exemplo: a-kan-thä-mē′bä.
   c. Quando a vogal da penúltima sílaba é longa. Exemplo: tre-pō-nē′mä. A vogal da penúltima sílaba é longa em palavras que terminam com os seguintes sufixos:

Sufixo	Exemplo
-ales	Ordens como Eubacteriales
-ina	*Sarcina*
-anus, -anum	*pasteurianum*
-uta	*diminuta*

   d. Quando a palavra termina com um dos seguintes sufixos:

Sufixo	Exemplo
-atus, -atum	*caudatum*
-ella	*Salmonella*

2. A entonação ocorre na antepenúltima sílaba em nomes de família. Famílias terminam em *-aceae*, sempre pronunciado como -ā′sē-ē.

Pronúncia de micro-organismos neste texto

a hat	ē see	o hot	th thin
ā age	ė term	ō go	u cup
ã care	g go	ô order	ů put
ä father	i sit	oi oil	ü rule
ch child	ī ice	ou out	ū use
e let	ng long	sh she	zh seizure

Acanthamoeba polyphaga a-kan-thä-mē′bä pol′if-ä-gä
Acetobacter a-sē′tō-bak-tėr
Acinetobacter baumanii a-si-ne′tō-bak-tėr bou′man-ē-ē
Actinomyces israelii ak-tin-ō-mī′sēs is-rā′lē-ē
Aedes aegypti ā′ē-dēz ē-jip′tē
A. albopictus al-bō-pik′tus
Aeromonas hydrophilia ãr′ō-mō-nas hī′dro-fil-ē-ä
Agrobacterium tumefaciens ag′rō-bak-ti′rē-um tü′me-fāsh-enz
Ajellomyces ä-jel-lō-mī′sēs
Alcaligenes al′kä-li-gen-ēs
Alexandrium äl-eg-zan′drē-um
Amanita phalloides am-an-ī′ta fal-loi′dēz
Amoeba proteus ä′mē-bä prō′tē-us
Anabaena azollae an-ä-bē′-nä ā′zō-lī
Anaplasma phagocytophilum an′ä-plaz-mä fāg′o sī-to-fil-um
Ancylostoma duodenale an-sil-os′tō-mä dü′o-den-al-ē
Anopheles an-of′e-lēz
Aquaspirillum ä-kwä-spī-ril′lum
A. serpens sėr′pens
Arcanobacterium phocae är′kā-no-bak-ti-rē-um fō′sī
Arthroderma är-thrō-dėr′mä
Ascaris lumbricoides as′kar-is lum-bri-koi′dēz
Ashbya gossypii ash′bē-ä gos-sip′ē-ē
Aspergillus flavus a-spėr-jil′lus flā′vus
A. niger nī′jėr
A. rouxii rō′ē-ē
Azolla ā-zō′lä
Azomonas ā-zō-mō′nas
Azospirillum ā-zō-spī′ril-lum
Azotobacter ä-zo′tō-bak-tėr
Babesia microti ba-bē′sē-ä mī-krō′tē
Bacillus amyloliquefaciens bä-sil′lus a′mil-ō-li-kwi-fa-shens
B. anthracis an-thrā′sis
B. cereus se′rē-us
B. circulans sėr′ku-lans
B. coagulans kō-ag′ū-lanz
B. licheniformis lī-ken-i-fôr′mis
B. sphaericus sfe′ri-kus
B. subtilis su′til-us
B. thuringiensis thůr-in-je¯-en′sis
Bacteroides fragilis bak-tė-roi′dēz fra′jil-is
Balamuthia bal′am-üth-ē-ä
Balantidium coli bal-an-tid′ē-um kō′lī (ou kō′lē)
Bartonella henselae bär′tō-nel-lä hen′sel-ī
Baylisascaris procyonis bā′lis-as-kar-is prō′sē-on-is
Bdellovibrio bacteriovorus del-lō-vib′rē-ō bak-tė-rē-o′vô-rus
Beauveria bō-vār′ē-a
Beggiatoa alba bej′jē-ä-tō-ä al′bä
Beijerinckia bī-yė-rink′ē-ä
Bifidobacterium bī-fi-dō-bak-ti′rē-um
Blastomyces dermatitidis blas-tō-mī′sēz dėr-mä-tit′i-dis
Blattabacterium blat-tä-bak-ti′rē-um
Bordetella pertussis bôr′de-tel-lä pėr-tus′sis
Borrelia burgdorferi bôr′-rel-ē-ä burg-dôr′fėr-ē
Bradyrhizobium brad-ē-rī-zō′bē-um
Brevibacterium bre′vē-bak-ti-rē′um
Brucella abortus brü′sel-lä ä-bôr′tus
B. melitensis me-li-ten′sis
B. suis sü′is
Burkholderia bėrk′hōld-ėr-ē-ä
B. cepacia se-pā′sē-ä
B. pseudomallei sū-dō-mal′le-ē

Byssochlamys fulva bis-sō-klam′is fül′vä
Campylobacter fetus kam′pi-lō-bak-te˙r fē′tus
C. jejuni jē-jü′nē
Candida albicans kan′did-ä al′bi-kanz
C. glabrata gla′brä-tä
C. utilis ū′til-is
Canis familiaris kānis fa-mil′ē-ār-is
Carsonella rudii kar′son-el-lä ru′dē-ē
Caulobacter kô-lō-bak′tėr
Cephalosporium sef-ä-lō-spô′rē-um
Ceratocystis ulmi sē-rä-tō-sis′tis ul′mē
Chilomastix kē′lō-ma-sticks
Chlamydia trachomatis kla-mi′dē-ä trä-kō′mä-tis
Chlamydomonas klam-i-dō-mō′näs
Chlamydophila pneumoniae kla-mi-do′fil-ä nü-mō′nē-ī
C. psittaci sit′tä-sē
Chlorobium klô-rō′bē-um
Chloroflexus klô-rō-flex′us
Chromatium krō-mā′tē-um
Chrysops krī′sops
Citrobacter sit′rō-bak-tėr
Claviceps purpurea kla′vi-seps pu̇r-pu̇-rē′ä
Clonorchis sinensis klo-nôr′kis si-nen′sis
Clostridium acetobutylicum klôs-tri′dē-um a-sē-tō-bū-til′li-kum
C. botulinum bo-tū-lī′num
C. butyricum bü-ti′ri-kum
C. difficile dif′fi-sil
C. pasteurianum pas-tyėr-ē-ā′num
C. perfringens pėr-frin′jens
C. sporogenes spô-rä′jen-ēz
C. tetani te′tan-ē
Coccidioides immitis kok-sid-ē-oi′dēz im′mi-tis
Coniothyrium minitans kon′ē-ō-ther-ē-um mi′ni-tanz
Corynebacterium diphtheriae kôr′ī-nē-bak-ti-rē-um dif-thi′rē-ī
C. glutamicum glü-tam′i-kum
C. xerosis ze-rō′sis
Coxiella burnetii käks′ē-el-lä bėr-ne′tē-ē
Crenarchaeota kren-ärk-e′ ō-tä
Crucibulum vulgare krü-si-bū′lum vul′gãr-ē
Cryphonectria parasitica kri-fō-nek′trē-ä par-ä-si′ti-kä
Cryptococcus gattii krip′tō-kok-kus gat′tē-ē
C. grubii grub′ē-ē
C. neoformans nē-ō-fôr′manz
Cryptosporidium hominis krip′tō-spô-ri-dē-um ho′min-is
C. *parvum* pär′vum
Culex kū′leks
Culiseta kū-li′se-tä
Cyclospora cayetanensis sī′klō-spô-rä kī′ē-tan-en-sis
Cytophaga sī-täf′äg-ä
Dermacentor andersoni dėr-mä-sen′tôr an-dėr-sōn′ē
D. variabilis vãr-ē-a′bil-is
Desulfotomaculum nigrificans dē′sul-fō-to-ma-kū-lum nī′gri-fi-kans
Desulfovibrio desulfuricans dē′sul-fō-vib-rē-ō dē-sul-fėr′i-kans
Dictyostelium dik′tē-ō-stel-ē-um
Diphyllobothrium latum dī-fil-lō-bo′thrē-um lā′tum
Dipylidium caninum dī′pil-i-dē-um kan-i-num
Dirofilaria immitis dī′rō-fi-lãr-ē-ä im′mi-tis
Dracunculus medininsis dra-kun′ku-lus med-in′in-sis
Echinococcus granulosus ē-kīn-ō-kok′kus gra-nū-lō′sus
Ectothiorhodospira mobilis ek′tō-thī-ō-rō-dō-spī-rä mō′bil-is
Ehrlichia chafeensis ėr′lik-ē-ä chaf′ē-en-sis
Entamoeba coli en-tä-mē′bä kō′lē
E. dispar dis′par
E. histolytica his-tō-li′ti-kä
Enterobacter aerogenes en-te-rō-bak′tėr ã-rä′jen-ēz
E. cloacae klō-ā′kē
Enterobius vermicularis en-te-rō′bē-us ver-mi-kū-lar′is
Enterococcus faecalis en-te-rō-kok′kus fē-kā′lis
E. faecium fē′sē-um
Entomophaga en′tō-mo-fāg-ä
Epidermophyton ep-i-dėr-mō-fī′ton
Epulopiscium fishelsoni ep′ū-lō-pis-sē-um fish′el-sō-nē
Erwinia ėr-wi′nē-ä
Erysipelothrix rhusiopathiae ãr-i-si-pel′ō-thrix rus-ē-ō-path′ē-ī
Escherichia coli esh-ė-rik′ē-ä kō′lī (ou kō′lē)
Eucalyptus ū′kal-ip-tus
Euglena ū-glē′nä
Filobasidiella fi-lō-ba-si-dē-el′lä
Fonsecaea pedrosoi fon-se′kē-ä pe-drō′sō-ē
Francisella tularensis fran′sis-el-lä tü′lä-ren-sis
Frankia frank′ē-ä
Fusarium fu′sãr-ē-um
Fusobacterium fü-sō-bak-ti′rē-um
Gambierdiscus toxicus gam′bē-ėr-dis-kus toks′i-kus
Gardnerella vaginalis gärd-nė-rel′lä va-jin-al′is
Gemmata obscuriglobus jem′mä-tä ob′skėr-ē-glob-us
Geobacillus stearothermophilus gē′ō-bä-sil-lus ste-rō-thėr-mä′fil-us
Giardia duodenalis jē-är′dē-ä dü′ō-den-al-is
G. intestinalis in′tes-tin-al-is
G. lamblia lam′lē-ä
Glaucocystis nostochinearum glou′ko-sis-tis no′stok-in-ē-ãr-um
Gloeocapsa glē-ō-kap′sä
Glossina gläs-sē′nä
Gluconacetobacter xylinus glü′kon-a-sē-tō-bak-tėr zy′lin-us
Gluconobacter glü′kon-ō-bak-tėr
Gracilaria gra′sil-ãr-ē-ä
Gymnoascus jim-nō-as′kus
Gymnodynium breve jim-nō-din′ē-um brev′ē
Haemophilus aegyptius hē-mä′fil-us e′jip-tē-us
H. ducreyi dü-krā′ē
H. influenzae in-flü-en′zī
Haloarcula hā′lō-är-kū-lä
Halobacterium ha-lō-bak-ti′rē-um
Helicobacter pylori hē′lik-ō-bak-tėr pī′lô-rē
Histoplasma capsulatum his-tō-plaz′mä kap-su-lä′tum
Homo sapiens hō′mō sā′pē-ens
Hydrogenomonas hī-drō-je-nō-mō′näs
Hyphomicrobium hī-fō-mī-krō′bē-um
Isospora ī-so′spô-rä
Isthmia nervosa isth′mē-ä nėr′vō-sä
Ixodes scapularis iks-ō′dēs skap-ū-lãr′is
I. pacificus pas-i′fi-kus
Klebsiella pneumoniae kleb-sē-el′lä nü-mō′nē-ī
Lactobacillus acidophilus lak-tō-bä-sil′lus a′sid-o-fil-us
L. brevis brev′is
L. delbrueckii bulgaricus del-brůk′ē-ē bul′gã-ri-kus
L. leichmannii līk-man′nē-ē
L. plantarum plan-tä′rum
L. sanfranciscensis san-fran-si′sken-sis
Lactococcus lak-tō-kok′kus
Laminaria japonica lam′i-när-e-ä ja-pon′i-kä
Legionella pneumophila lē-jä-nel′lä nü-mō′fi-lä
Leishmania braziliensis lish′mā-nē-ä brä-sil′ē-en-sis
L. donovani don′ō-van-ē
L. tropica trop′i-kä
Leptospira interrogans lep-tō-spī′rä in-tėr′rä-ganz
Leuconostoc mesenteroides lü-kō-nos′tok mes-en-ter-oi′dēz
Limulus polyphemus lim′ū-lus pol-if′i-mus
Listeria monocytogenes lis-te′rē-ä mo-nō-sī-tô′je-nēz
Macrocystis porifera ma′krō-sis-tis pōr′i-fė-rä
Magnetospirillum magnetotacticum mag-nē-tō-spī-ril-lum mag-ne-tō-tak′ti-kum
Malassezia furfur mal′as-sēz-ē-a fur′fur
Mannheimia haemolytica man-hī′me-ä hē′mō-li-ti-kä
Metarrhizium me′tär-rī-zē-um
Methylophilus methylotrophus meth-i-lo′fi-lus meth-i-lō-trōf′us
Microcladia mī-krō-klād′ē-ä
Micrococcus luteus mī-krō-kok′kus lū′tē-us
Micromonospora purpurea mī-krō-mo-nä′spô-rä pu̇r-pu̇-rē′ä

Microsporum g mī-krō-spô′rum ji
Mixotricha mix-ō-trik′ä
Moraxella catarrhalis mô-raks-el′lä ka-tär′al-is
M. lacunata la-kü-nä′tä
Mucor indicus mū′kôr in′di-kus
Mycobacterium abscessus mī-kō-bak-ti′rē-um ab′ses-sus
M. avium-intracellulare ā′vē-um-in′trä-cel-ū-lä-rē
M. bovis bō′vis
M. leprae lep′rī
M. smegmatis smeg-ma′tis
M. tuberculosis tü-bėr-kū-lō′sis
M. ulcerans ul′sėr-anz
Mycoplasma hominis mī-kō-plaz′mä ho′mi-nis
M. pneumoniae nu-mō′nē-ī
Myxococcus fulvus micks-ō-kok′kus ful′vus
M. xanthus zan′thus
Naegleria fowleri nī-gle′rē-ä fou′lėr-ē
Necator americanus ne-kā′tôr ä-me-ri-ka′nus
Neisseria gonorrhoeae nī-se′rē-ä go-nôr-rē′ī
N. meningitidis me-nin-ji′ti-dis
Nitrobacter nī-trō-bak′tėr
Nitrosomonas nī-trō-sō-mō′näs
Nocardia asteroides nō-kär′dē-ä as-tėr-oi′dēz
Nosema locustae nō′sē-mä lō′kus-tē
Oocystis ō-ō-sis′tis
Ornithodorus ôr-nith-ō′dô-rus
Paecilomyces fumosoroseus pī′sil-ō-mī-cēs fū′mō-sō-rō-sē-us
Paenibacillus polymixa pi′nē-bä-sil-lus po-lē-miks′ä
Pantoea agglomerans pan′tō-ē-ā äg′glom-ér-anz
Paracoccus denitrificans pãr-ä-kok′kus dē-nī-tri′fi-kanz
Paragonimus westermani pãr-ä-gōn′e-mus we-stėr-ma′nē
Paramecium pãr-ä-mē′sē-um
Pasteurella multocida pas-tyėr-el′lä mul-tō′si-dä
Pediculus humanus capitis ped-ik′ū-lus hü′ma-nus kap′-i tis
P. humanus corporis hü′ma-nus kôr′pô-ris
Pediococcus pe-dē-ō-kok′kus
Pelagibacter ubique pel-aj′ē-bak-tėr ū′bēk
Penicillium chrysogenum pen-i-sil′lē-um krī-so′jen-um
P. griseofulvum gri-sē-ō-fůl′vum
P. notatum nō′ta-tum
Peridinium per-i-din′ē-um
Petriellidium pet-rē-el-li′dē-um
Pfiesteria fē′ster-ē-ä
Phlebotomus fle′-bo-to-mus
Photobacterium fō′tō-bak-ti-rē-um
Physarum fī′sãr-um
Phytophthora cinnamoni fī-tof′thô-rä cin′nä-mō-nē
P. infestans in-fes′tans
P. ramorum ra′môr-um
Pityrosporum ovale pit-i-ros′pô-rum ovale
Plasmodium falciparum plaz-mō′dē-um fal-sip′är-um
P. malariae mä-lã′rē-ī
P. ovale ō-vä′lē
P. vivax vī′vaks
Plesiomonas shigelloides ple-sē-ō-mō′nas shi-gel-loi′des
Pneumocystis jirovecii nü-mō-sis′tis ye-rō′vet-zē-ē
Porphyromonas pôr′fī-rō-mō-nas
Prevotella intermedia prev′ō-tel-la in′tėr-mē-dē-ä
Prochlorococcus prō-klôr′ō-kok-kus
Propionibacterium acnes prō-pē-on′ē-bak-ti-rē-um ak′nēz
P. freudenreichii froi-den-rīk′ē-ē
Proteus mirabilis prō′tē-us mi-ra′bi-lis
Pseudomonas aeruginosa sū-dō-mō′nas ā-rü-ji-nō′sä
P. carboxydohydrogena kär′boks-i-dō-hī-drō-je-nä
P. fluorescens flôr-es′ens
P. putida pü′tē-dä
P. syringae sėr-in′jī
Pyridictum abyssi pir-i′dik-tum a-bis′sē
Quercus kwer′kus
Ralstonia räl′stō-nē-ä
Rhizobium rī-zō′bē-um
R. meliloti mel-i-lot′ē
Rhizopus stolonifer rī′zō-pus stō′lon-i-fėr
Rhodococcus bronchialis rō-dō-kok′kus bron-kē′al-is
R. erythropolis er-i-throp′ō-lis
Rhodopseudomonas rō-dō-su-dō-mō′nas
Rhodospirillum rubrum rō-dō-spī-ril′um rūb′rum
Rickettsia prowazekii ri-ket′sē-ä prou-wä-ze′kē-ē
R. rickettsii ri-ket′sē-ē
R. typhi tī′fē
Rosa pratincula rō-sä pra′tin-kü-lä
Saccharomyces sak-ä-rō-mī′sēs
S. carlsbergensis kärls′bėrg-en-sis
S. cerevisiae ellipsoides se-ri-vis′ē-ī ē′lip-soi-dez
S. exiguus egz-ij′ū-us
Salmonella bongori sal′mön-el-lä bon′gôr-ē
S. choleraesuis kol-ėr-ä-sü′is
S. enterica en-ter′i-kä
S. enteritidis en-tėr-ī′ti-dis
S. typhi tī′fē
S. typhimurium tī-fi-mūr′ē-um
Saprolegnia ferax sa′-prō-leg-nē-ä fe′raks
Sarcoptes scabiei sär-kop′tēs skā′bē-ē
Sargassum sär-gas′sum
Schistosoma haemotobium shis-tō-sō′mä (ou skis-tō-sō′mä) hē′mō-tō-bē-um
Schizosaccharomyces skiz-ō-sak-ä-rō-mī′sēs
Serratia marcescens ser-rä′tē-ä mär-ses′sens
Shigella boydii shi-gel′lä boi′dē-ē
S. dysenteriae dis-en-te′rē-ī
S. flexneri fleks′nėr-ē
S. sonnei sōn′ne-ē
Sphaerotilus natans sfe-rä′ti-lus nā′tans
Spirillum minus spī′ril-lum mī′nus
S. volutans vō′lū-tans
Spiroplasma spī-rō-plaz′mä
Spirulina spī-rü-lī′nä
Spongomorphora spon′jō-môr-fô-rä
Sporothrix schenkii spô-rō′thriks shen′kē-ē
Stachybotrys stak′ē-bo-tris
Staphylococcus aureus staf-i-lō-kok′kus ô′rē-us
S. epidermidis e-pi-der′mi-dis
Stella stel′lä
Streptobacillus moniliformis strep-tō-bä-sil′lus mon′il-i-fôr-mis
Streptococcus agalactiae strep-tō-kok′kus ā′gal-act-ē-ī
S. mutans mū′tans
S. pneumoniae nü-mō′nē-ī
S. pyogenes pī-äj′en-ēz
S. thermophilus thėr-mo′fil-us
Streptomyces aureofaciens strep-tō-mī′sēs ô-rē-ō-fa′si-ens
S. erythraeus ā-rith′rē-us
S. fradiae frā′dē-ī
S. griseus gri′sē-us
S. hygroscopius hī′grō-skō-pē-us
S. lactamdurans lak′tam-dūr-anz
S. nodosus nō-dō′sus
S. venezuelae ve-ne-zü-e′lī
Sulfolobus sul′fō-lō-bus
Synechococcus sin′ē-kō-kok-kus
Taenia saginata te′nē-ä sa-ji-nä′tä
T. solium sō′lē-um
Talaromyces macrosporus ta-lä-rō-mī′sēs ma′-krō-spôr-us
Taxomyces tacks′ō-mī-sēs
Tetrahymena tet-rä-hī′me-nä
Thermoactinomyces vulgaris thėr-mō-ak-tin-ō-mī′sēs vul-ga′ris
Thermoanaerobium thermosaccharolyticum thėr′mō-an-e-rō-bē-um thėr-mō-sak-kär-ō-li′ti-kum
Thermoplasma thėr-mō-plaz′mä
Thermotoga maritima thėr′mō-tō-gä mar-it′ē-mä

Thermus aquaticus thėr′mus ä′kwä-ti-kus
Thiobacillus ferrooxidans thī-ō-bä-sil′lus fer-rō-oks′i-danz
T. thiooxidans thī-ō-oks′i-danz
Thiocapsa floridana thī-ō-kap′sä flôr′i-dä-nä
Thiomargarita namibiensis thī′ō-mär-gär-ē-tä na′mi-be-en-sis
Toxoplasma gondii toks-ō-plaz′mä gon′dē-ē
Treponema pallidum tre-pō-nē′mä pal′li-dum
Triatoma trī-ä-tō′ma
Tribonema vulgare trī′bō-nē-mä vul′gãr-ē
Triceratium latus trī-ser′ä-te-um lā-tus
Trichinella nativa trik-in-el′lä na′tē-vä
T. spiralis spī-ra′lis
Trichoderma viride trik′ō-dėr-mä vir′-i-dä
Trichodesmium trik′-ō-des-mē-um
Trichomonas vaginalis trik-ō-mōn′as va-jin-al′is
Trichonympha sphaerica trik-ō-nimf′ä sfe′ri-kä
Trichophyton trik-ō-fī′ton
Trichosporon trik-ō-spôr′on
Trichuris trichiura trik′ėr-is trik-ē-yėr′a
Tridacna trī-dak′nä
Tropheryma whipplei trō-fer-ē′mä whip′plē-ī
Trypanosoma brucei gambiense tri-pa′nō-sō-mä brüs′ē gam-bē-ens′
T. brucei rhodesiense rō-dē-sē-ens′
T. cruzi kruz′ē
Ulva ul′vä
Ureaplasma urealyticum ū-rē-ä-plaz′mä ū-rē-ä-lit′i-kum
Usnea üs′nē-ä
Veillonella vī-lo-nel′lä
Vibrio cholerae vib′rē-ō kol′ėr-ī
V. fischeri fish′ėr-ē
V. parahaemolyticus pa-rä-hē-mō-li′ti-kus
V. vulnificus vul′ni-fi-kus
Vorticella vôr′ti-sel-lä
Wolbachia wol-ba′kē-ä
Wuchereria bancrofti vū-kėr-ār′ē-ä ban-krof′tē
Xanthomonas campestris zan′thō-mō-nas kam′pe-stris
Xenopsylla cheopis ze-nop′sil-lä kē-ō′pis
Yersinia enterocolitica yėr-sin′ē-ä en′tėr-ō-kōl-it-ik-ä
Y. pestis pes′tis
Y. pseudotuberculosis sū-dō-tü-bėr-kū-lō′sis
Zoogloea zō′ō-glē-ä

APÊNDICE E

Radicais utilizados em microbiologia

As regras gramaticais latinas estão relacionadas com o singular e o plural dos nomes científicos.

	Gênero		
	Feminino	**Masculino**	**Neutro**
Singular	-a	-us	-um
Plural	-ae	-i	-a
Exemplos	alga, algae	fungus, fungi	bacterium, bacteria

a-, an- ausência, falta. Exemplos: abiótico, na falta de vida; anaeróbico, na ausência de ar.
-able (-ável) capaz de, apto a. Exemplo: viável, ter a habilidade de viver ou existir.
actino- raio. Exemplo: actinomicetos, bactéria cujas colônias têm o formato de estrela (com raios).
aer- ar. Exemplos: aeróbico, na presença de ar; aerado, adicionar ar.
albo- branco. Exemplo: *Streptomyces albus* produz colônias brancas.
ameb- mudança. Exemplo: ameboide, movimento que envolve a mudança de formas.
amphi-(anfi-) em volta de. Exemplo: anfitríquio, tufos de flagelo em ambas as extremidades da célula.
amyl-(amil-) amido. Exemplo: amilase, enzima que degrada o amido.
ana- construir. Exemplo: anabolismo, construção.
ant-, anti- oposto de, preventivo. Exemplo: antimicrobiano, substância que previne o crescimento microbiano.
archae- ancião. Exemplo: arquibactéria, bactéria "anciã", considerada a primeira forma de vida.
asco- bolsa. Exemplo: ascus, estrutura semelhante a uma bolsa que armazena esporos.
aur- ouro. Exemplo: *Staphylococcus aureus*, cujas colônias são pigmentadas de amarelo-ouro.
aut-, auto- próprio. Exemplo: autotrófico, produz seu próprio alimento.
bacillo-(bacilo-) pequeno bastão. Exemplo: bacilo, forma de bastão.
basid- base, pedestal. Exemplo: basídio, célula que armazena esporos.
bdell- parasita. Exemplo: *Bdellovibrio*, bactéria predadora.
bio- vida. Exemplo: biologia, estudo da vida e de organismos vivos.
blast- brotar. Exemplo: blastosporo, esporos formados por brotamento.
bovi- bovino. Exemplo: *Mycobacterium bovis*, bactéria encontrada em bovinos.
brevi- pequeno. Exemplo: *Lactobacillus brevis*, bactéria cujas células são pequenas.
butyr- (butir-) manteiga. Exemplo: ácido butírico, formado na manteiga, responsável pelo odor rançoso.
campylo- encurvado. Exemplo: *Campylobacter*, bastão encurvado.
carcin- câncer. Exemplo: carcinogênico, agente causador do câncer.
caseo- queijo. Exemplo: caseoso, semelhante a queijo.
caul- caule. Exemplo: *Caulobacter*, bactéria em forma de caule ou pendão.
cerato- córneo. Exemplo: queratina, substância córnea que compõe a pele e as unhas.
chlamydo- (clamido-) cobertura. Exemplo: clamidoconídio, conídio formado dentro da hifa.
chloro- (cloro-) verde. Exemplo: clorofila, molécula pigmentada de verde.
chrom- (crom) cor. Exemplo: cromossomo, estrutura prontamente corada, metacromática, grânulo intracelular colorido.
chryso- dourado. Exemplo: *Streptomyces chryseus*, cujas colônias são douradas.
-cide (-cida) matar. Exemplo: bactericida, agente que mata bactérias.
cili- cílio. Exemplo: cílio, organela semelhante a fios de cabelo.
cleisto- fechado. Exemplo: cleistotécio, ascus completamente fechado.
co-, con- junto. Exemplo: concêntrico, ter um centro comum, juntos no centro.
cocci- esférico. Exemplo: cocos, célula esférica.
coeno- dividido. Exemplo: coenócito, célula com muitos núcleos não separados por septos.
col-, colo- colo. Exemplos: colo, intestino grosso; *Escherichia coli*, bactéria encontrada no intestino grosso.
conidio- poeira. Exemplo: conídio, esporos desenvolvidos no final da hifa aérea, nunca inclusos.
coryne- clava. Exemplo: *Corynebacterium*, células em forma de clava.
-cul forma pequena. Exemplo: partícula, pequena parte.
-cut pele. Exemplo: Firmicutes, bactérias com parede celular firme, gram-positivas.
cyano- (ciano-) azul. Exemplo: cianobactérias, organismos com coloração azul-esverdeada.
cyst- (cist-) bexiga. Exemplo: cistite, inflamação da bexiga urinária.
cyt- (cit-) célula. Exemplo: citologia, estudo das células.
de- desfazer, reverso, perda, remoção. Exemplo: desativação, tornar inativo.
di-, diplo- duas vezes, dobro. Exemplo: diplococos, pares de cocos.
dia- através, entre. Exemplo: diafragma, parede através ou entre duas áreas.
dys- (dis-) difícil, deficiente, doloroso. Exemplo: disfunção, função deficiente.
ec-, ex-, ecto fora, externo, longe de. Exemplo: excretar, remover materiais do corpo.
en-, em- dentro, interior. Exemplo: encistado, incluso em um cisto.
entero- intestino. Exemplo: *Enterobacter*, bactéria encontrada no intestino.
eo- amanhecer, precoce. Exemplo: *Eobacterium*, bactéria fossilizada a 3,4 bilhões de anos.
epi- sobre, superior. Exemplo: epidemia, número de casos de uma doença superior ao normalmente esperado.
erytro- (eritro-) vermelho. Exemplo: eritema, vermelhidão da pele.
eu- bom, apropriado. Exemplo: eucariótica, célula apropriada.
exo- exterior, camada externa. Exemplo: exógeno, externo ao corpo.
extra- exterior, além de. Exemplo: extracelular, externo às células de um organismo.
firmi- forte, firme. Exemplo: *Bacillus firmus*, forma endosporos resistentes.
flagell- chicote. Exemplo: flagelo, uma projeção da célula; em células eucarióticas, o flagelo as empurra de maneira semelhante ao movimento de uma chicotada.
flav- amarelo. Exemplo: *Flavobacterium*, células que produzem pigmento amarelo.
fruct- (frut-) fruta. Exemplo: frutose, açúcar da fruta.
-fy (-ficar) fazer. Exemplo: magnificar, tornar maior.
galacto- leite. Exemplo: galactose, monossacarídeo presente no açúcar do leite.
gamet- casar. Exemplo: gameta, célula reprodutiva.
gastr- estômago. Exemplo: gastrite, inflamação do estômago.
gel- enrijecer. Exemplo: gel, coloide solidificado.
-gen agente que inicia. Exemplo: patógeno, qualquer agente capaz de gerar uma doença.
-genesis formação. Exemplo: patogênese, geração de uma doença.
germ, germin- broto. Exemplo: germe, parte de um organismo capaz de se desenvolver.
-gony (-gonia) reprodução. Exemplo: esquizogônia, fissão múltipla que produz muitas células novas.
gracili- fino. Exemplo: *Aquaspirillum gracile*, célula fina.
halo- sal. Exemplo: halófilo, organismo capaz de viver em altas concentrações de sal.
haplo- um, único. Exemplo: haploide, metade do número de cromossomos ou apenas um conjunto de cromossomos.
hema-, hemato-, hemo- sangue. Exemplo: *Haemophilus*, bactéria que obtém nutrientes dos glóbulos vermelhos do sangue.
hepat- fígado. Exemplo: hepatite, inflamação do fígado.
herpes- rastejante. Exemplo: herpes ou herpes zoster, lesões que parecem rastejar ao longo da pele.
hetero- diferente, outro. Exemplo: heterotrófico, obtém nutrientes orgânicos de outro organismo de uma fonte diferente.
hist- tecido. Exemplo: histologia, estudo dos tecidos.
hom-, homo- mesmo. Exemplo: homofermentador, organismo que produz apenas ácido lático a partir da fermentação de um carboidrato.
hydr-, hydro- (hidr-, hidro-) água. Exemplo: desidratação, perda de água pelo corpo.
hyper- (hiper-) excesso. Exemplo: hipertônico, apresenta uma pressão osmótica maior em relação ao outro.
hypo- (hipo-) abaixo, deficiente. Exemplo: hipotônico, apresenta uma pressão osmótica menor em relação ao outro.
im- não. Exemplo: impermeável, que não permite a passagem.
inter- entre. Exemplo: intercelular, entre células.
intra- dentro, interior. Exemplo: intracelular, dentro da célula.

io- violeta. Exemplo: iodo, elemento químico que produz um vapor violeta.
iso- igual, mesmo. Exemplo: isotônico, apresenta a mesma pressão osmótica em relação ao outro.
-itis (-ite) inflamação. Exemplo: colite, inflamação do intestino grosso.
-karyo, -caryo (-cario) noz. Exemplo: eucariótica, célula cujo núcleo é envolto por uma membrana.
kin- (cin-) movimento. Exemplo: estreptocinase, enzima que lisa ou move a fibrina.
lacti- leite. Exemplo: lactose, o açúcar do leite.
lepis- escamoso. Exemplo: lepra, doença caracterizada por lesões na pele.
lepto- delgado. Exemplo: *Leptospira*, espiroqueta delgada.
leuko- (leuco-) brancura. Exemplo: leucócito, glóbulo branco do sangue.
lip-, lipo- gordura, lipídeo. Exemplo: lipase, enzima que quebra a gordura.
-logy (-logia) estudo de. Exemplo: patologia, estudo das mudanças estruturais e funcionais provocadas por uma doença.
lopho- (lofo-) tufo. Exemplo: lofotríquio, grupo de flagelos em um dos lados de uma célula.
luc, luci- luz. Exemplo: luciferina, substância presente em alguns organismos que emite luz quando quebrada pela enzima luciferase.
lute-, luteo- amarelo. Exemplo: *Micrococcus luteus*, colônias amarelas.
-lysis (-lise) perda, quebra. Exemplo: hidrólise, decomposição química de um composto em outros compostos em decorrência da perda de água.
macro- grande. Exemplo: macromolécula, molécula grande.
mendosi- faculdade. Exemplo: Mendosicutes, arquibactéria que não apresenta peptideoglicano.
meningo- membrana. Exemplo: meningite, inflamação das meninges do cérebro.
meso- meio. Exemplo: mesófilo, organismo cuja temperatura ótima é mediana.
meta- além de, entre, transição. Exemplo: metabolismo, mudanças químicas que ocorrem em um organismo vivo.
micro- pequeno. Exemplo: microscópio, instrumento utilizado para fazer pequenos objetos parecerem maiores.
-mnesia memória. Exemplos: amnésia, perda de memória; anamnésia, recuperação da memória.
molli- macio. Exemplo: Mollicutes, um grupo de eubactérias sem parede celular.
-monas uma unidade. Exemplo: *Methylomonas*, uma unidade (bactéria) que utiliza o metano como fonte de carbono.
mono- único. Exemplo: monotríquio, apenas um flagelo.
morpho- (morfo-) forma. Exemplo: morfologia, estudo da forma e da estrutura dos organismos.
multi- muitos. Exemplo: multinuclear, que apresenta vários núcleos.
mur- parede. Exemplo: mureína, componente da parede celular das bactérias.
mut- mudar. Exemplo: mutação, mudança repentina de características.
myco-,- mycetoma,- myces fungo. Exemplo: *Saccharomyces*, fungo do açúcar, um gênero de levedura.
myxo- limo, muco. Exemplo: Myxobacteriales, ordem de bactérias produtoras de limo.
necro- cadáver. Exemplo: necrose, morte celular ou morte de uma porção do tecido.
-nema filamento. Exemplo: *Treponema*, apresenta células longas e filamentosas.
nigr- preto. Exemplo: *Aspergillus niger*, fungo que produz conídios pretos.
ob- antes, contra. Exemplo: obstrução, impedimento ou bloqueio.
oculo- olho. Exemplo: monocular, relacionado a um olho.
-oecium, -ecium (-ecio) casa. Exemplos: peritécio, ascus com abertura que armazena os esporos; ecologia, estudo da relação entre os organismos, bem como entre o organismo e seu ambiente (habitantes).
-oid parecido, semelhante. Exemplo: cocoide, semelhante a um coco.
oligo- pequeno, pouco. Exemplo: oligossacarídeo, carboidrato composto de poucos (7 a 10) monossacarídeos.
oma- tumor. Exemplo: linfoma, tumor dos tecidos linfáticos.
-ont sendo, existindo. Exemplo: esquizonte, célula existente como resultado de uma esquizogônia.
ortho- (orto-) objetivo, direto. Exemplo: ortomixovírus, vírus com um capsídeo reto, tubular.
-osis, -sis (-ose, -se) condição de. Exemplos: lise, condição de perda; simbiose, condição de viver em conjunto.
pan- tudo, universal. Exemplo: pandemia, epidemia que afeta uma grande região.
para- ao lado, próximo. Exemplo: parasita, um organismo que se alimenta "ao lado" de outro.
peri- em volta de. Exemplo: peritríquio, apresenta projeções de todos os lados.
phaeo- (feo-) marrom. Exemplo: feófita, alga marrom.
phago- (fago-) comer. Exemplo: fagócito, célula que engloba e digere partículas ou células.
philo-, -phil (filo-, fil-) preferir, escolher. Exemplo: termófilo, organismo que prefere temperaturas altas.
-phore (-poro) tolerar, suportar. Exemplo: conidiosporo, hifa que suporta conídios.
-phyll (-fila) folha. Exemplo: clorofila, pigmento verde das folhas.
-phyte (-fita) planta. Exemplo: saprofita, planta que obtém nutrientes de matéria orgânica em decomposição.
pil- cabelo. Exemplo: pilus, projeção celular semelhante a um fio de cabelo.
plankto- (plancto-) itinerante, sem destino. Exemplo: plâncton, organismos à deriva ou vagando na água.
plast- formado. Exemplo: plastídio, corpo formado em uma célula.
-pnoea, -pnea (-pneia) respiração. Exemplo: dispneia, dificuldade de respiração.
pod- pé. Exemplo: pseudópode, estrutura semelhante a um pé.
poly- (poli-) muitos. Exemplo: polimorfismo, muitas formas.
post- depois, atrás. Exemplo: posterior, local depois de uma determinada parte.
pre-, pro- anterior, na frente de. Exemplos: procariótica, célula com o primeiro núcleo; prenha, anterior ao nascimento.
pseudo- falso. Exemplo: pseudópode, pé falso.
psychro- (psicro-) frio. Exemplo: psicrófilo, organismo cujo crescimento é melhor em baixas temperaturas.
-ptera asa. Exemplo: díptera, ordem de moscas verdadeiras, insetos com duas asas.
pyo- (pio-) pus. Exemplo: piogênico, formador de pus.
rhabdo- (rabdo-) haste, bastão. Exemplo: rabdovírus, vírus alongado, em forma de projétil.
rhin- (rin-) nariz. Exemplo: rinite, inflamação da mucosa nasal.
rhizo- (rizo-) raiz. Exemplos: *Rhizobium*, bactéria que cresce na raiz das plantas; micorriza, fungo capaz de crescer dentro ou fora da raíz das plantas.
rhodo- vermelho. Exemplo: *Rhodospirillum*, bactéria pigmentada de vermelho cuja forma é espiral.
rod- roer. Exemplo: roedores, grupo de mamíferos que apresentam dentes capazes de roer.
rubri- vermelho. Exemplo: *Clostridium rubrum*, colônias pigmentadas de vermelho.
rumin- garganta. Exemplo: *Ruminococcus*, bactéria associada ao rúmen (esôfago modificado).
saccharo- (sacar-) açúcar. Exemplo: dissacarídeo, açúcar composto de dois açúcares simples.
sapr- podre. Exemplo: *Saprolegnia*, fungo que vive em animais mortos.
sarco- carnal. Exemplo: sarcoma, tumor muscular ou de tecidos conectivos.
schizo- (esquizo-) divisão. Exemplo: esquizomicetos, organismos que se reproduzem por cissiparidade.
scolec- verme. Exemplo: escoléx, cabeça da tênia.
-scolpe, -scopic observador. Exemplo: microscópio, instrumento utilizado para a observação de materiais pequenos.
semi- metade. Exemplo: semicircular, apresenta o formato da metade de um círculo.
sept- podridão. Exemplo: séptico, presença de bactérias que podem causar decomposição.
septo- partição. Exemplo: septo, parede seccional presente na hifa fúngica.
serr- dente de serra. Exemplo: serrilhado, apresenta borda com dentes de serra.
sidero- ferro. Exemplo: *Siderococcus*, bactéria capaz de oxidar o ferro.
siphon- tubo. Exemplo: *Siphonaptera*, ordem das pulgas, insetos com bocas tubulares.
soma- corpo. Exemplo: células somáticas, células corporais, exceto gametas.
speci- características particulares. Exemplos: espécies, o menor grupo de organismos com propriedades semelhantes; específico, indicar exatamente.
spiro- espiral. Exemplo: espiroqueta, bactéria cuja célula é espiralada.
sporo- esporo. Exemplo: esporângio, estrutura que armazena esporos.
staphylo- agrupamento semelhante a um cacho de uvas. Exemplo: *Staphylococcus*, bactérias que formam cachos de células.
-stasis (-stase) prisão, fixação. Exemplo: bacteriostase, interrupção do crescimento bacteriano.
strepto- retorcido. Exemplo: *Streptococcus*, bactérias que formam cadeias retorcidas de células.
sub- abaixo, sob. Exemplo: subcutâneo, logo abaixo da pele.
super- acima, sobre. Exemplo: superior, qualidade ou estado de estar acima de outros.
sym-, syn- (sin-) junto, com. Exemplos: sinapse, região de comunicação entre dois neurônios; síntese, unir.
-taxi tocar. Exemplo: quimiotaxia, resposta à presença (contato) de químicos.

taxis- agrupamento ordenado. Exemplo: taxonomia, ciência que lida com a organização de organismos em grupos.
tener- macio. Exemplo: Tenericutes, filo que apresenta eubactérias sem parede celular.
thallo- corpo da planta. Exemplo: *thallus*, fungo inteiramente macroscópico.
therm- calor. Exemplo: *Thermus*, bactéria que cresce em altas temperaturas (até 75º C).
thio- enxofre. Exemplo: *Thiobacillus*, bactéria capaz de oxidar compostos que contêm enxofre.
-**thrix** veja **trich**-
-**tome,** -**tomy (**-**tomia)** cortar. Exemplo: apendicectomia, remoção cirúrgica do apêndice.
-**tone,** -**tonic** força. Exemplo: hipotônico, apresenta menor força (pressão osmótica).
tox- veneno. Exemplo: antitoxina, efetiva contra veneno.
trans- através de. Exemplo: transporte, movimento de substâncias.
tri- três. Exemplo: trimestre, período de três meses.
trich- cabelo. Exemplo: peritríquio, projeções celulares semelhantes a fios de cabelo.
-**trope** atração. Exemplo: geotrópico, atração para a Terra (força da gravidade).
-**troph (**-**trof)** alimento, nutrição. Exemplo: trófico, associado à nutrição.
-**ty (**-**dade)** condição de, estado. Exemplo: imunidade, condição de ser resistente a uma doença ou infecção.
undul- **(ondul**-**)** irregular. Exemplo: ondulado, subindo e descendo, de aparência ondulada.
uni- um. Exemplo: unicelular, pertencente a uma única célula.
vaccin- vaca. Exemplo: vacinação, aplicação de uma vacina (originalmente pertencente às vacas).
vacu- vazio. Exemplo: vacúolos, espaço intracelular que parece estar vazio.
vesic- bexiga. Exemplo: vesícula, bolha.
vitr- vidro. Exemplo: *in vitro*, em meio de cultura em recipiente de vidro (ou plástico).
-**vorous (**-**voro)** alimentar. Exemplo: carnívoros, animais que se alimentam de outros animais.
xantho- amarelo. Exemplo: *Xanthomonas*, cujas colônias são amarelas.
xeno- estranho. Exemplo: axênico, estéril, livre de organismos estranhos.
xero- seco. Exemplo: xerófita, qualquer planta capaz de tolerar condições secas.
xylo- **(xilo**-**)** madeira. Exemplo: xilose, açúcar obtido da madeira.
zoo- animal. Exemplo: zoologia, estudo dos animais.
zygo- **(zigo**-**)** juntar. Exemplo: zigosporo, esporo formado a partir da junção de duas células.
-**zyme (**-**zima)** fermentar. Exemplo: enzima, qualquer proteína presente em células vivas capaz de catalisar reações químicas.

APÊNDICE F

Classificação das bactérias de acordo com o *Bergey's Manual**

Domínio: Bacteria
- **Filo Aquificae**
  - Classe I: Aquificae
    - Ordem I: Aquificales
      - Família I: Aquificaceae
        - *Aquifex*
        - *Calderobacterium*
        - *Hydrogenobacter*
        - *Hydrogenobaculum*
        - *Hydrogenothermus*
        - *Persephonella*
        - *Sulfurihydrogenibium*
        - *Thermocrinis*
      - Gênero incertae sedis
        - *Balnearium*
        - *Desulfurobacterium*
        - *Thermovibrio*
- **Filo Thermotogae**
  - Classe I: Thermotogae
    - Ordem I: Thermotogales
      - Família I: Thermotogaceae
        - *Fervidobacterium*
        - *Geotoga*
        - *Marinitoga*
        - *Petrotoga*
        - *Thermosipho*
        - *Thermotoga*
- **Filo Thermodesulfobacteria**
    - Ordem I: Thermodesulfobacteriales
      - Família I: Thermodesulfobacteriaceae
        - *Thermodesulfobacterium*
- **Filo Deinococcus-Thermus**
  - Classe I: Deinococci
    - Ordem I: Deinococcales
      - Família I: Deinococcaceae
        - *Deinococcus*
    - Ordem II: Thermales
      - Família I: Thermaceae
        - *Marinithermus*
        - *Meiothermus*
        - *Oceanithermus*
        - *Thermus*
        - *Vulcanithermus*
- **Filo Chrysiogenetes**
  - Classe I: Chrysiogenetes
    - Ordem I: Chrysiogenales
      - Família I: Chrysiogenaceae
        - *Chrysiogenes*
- **Filo Chloroflexi**
  - Classe I: Chloroflexi
    - Ordem I: Chloroflexales
      - Família I: Chloroflexaceae
        - *Chloroflexus*
        - *Chloronema*
        - *Heliothrix*
        - *Roseiflexus*
      - Família II: Oscillochloridaceae
        - *Oscillochloris*
    - Ordem II: Herpetosiphonales
      - Família I: Herpetosiphonaceae
        - *Herpetosiphon*
  - Classe II: Anaerolineae
    - Ordem I: Anaerolinaeles
      - Família I: Anaerolinaceae
        - *Anaerolineae*
- **Filo Thermomicrobia**
  - Classe I: Thermomicrobia
    - Ordem I: Thermomicrobiales
      - Família I: Thermomicrobiaceae
        - *Thermomicrobium*
- **Filo Nitrospira**
  - Classe I: Nitrospira
    - Ordem I: Nitrospirales
      - Família I: Nitrospiraceae
        - *Leptospirillum*
        - *Magnetobacterium*
        - *Nitrospira*
        - *Thermodesulfovibrio*
- **Filo Deferribacteres**
  - Classe I: Deferribacteres
    - Ordem I: Deferribacterales
      - Família I: Deferribacteraceae
        - *Deferribacter*
        - *Denitrovibrio*
        - *Flexistipes*
        - *Geovibrio*
      - Gênero incertae sedis
        - *Caldithrix*
        - *Synergistes*
- **Filo Cyanobacteria**
  - Classe I: Cyanobacteria
    - Subseção I
        - *Chamaesiphon*
        - *Chroococcus*
        - *Cyanobacterium*
        - *Cyanobium*
        - *Cyanothece*
        - *Dactylococcopsis*
        - *Gloeobacter*
        - *Gloeocapsa*
        - *Gloeothece*
        - *Microcystis*
        - *Prochlorococcus*
        - *Prochloron*
        - *Synechococcus*
        - *Synechocystis*
    - Subseção II
        - *Chroococcidiopsis*
        - *Cyanocystis*
        - *Dermocarpella*
        - *Myxosarcina*
        - *Pleurocapsa*
        - *Stanieria*
        - *Xenococcus*
    - Subseção III
        - *Arthrospira*
        - *Borzia*
        - *Crinalium*
        - *Geitlerinema*
        - *Halospirulina*
        - *Leptolyngbya*
        - *Limnothrix*
        - *Lyngbya*
        - *Microcoleus*
        - *Oscillatoria*
        - *Planktothrix*
        - *Prochlorothrix*
        - *Pseudoanabaena*
        - *Spirulina*
        - *Starria*
        - *Symploca*
        - *Trichodesmium*
        - *Tychonema*
    - Subseção IV
        - *Anabaena*
        - *Anabaenopsis*
        - *Aphanizomenon*
        - *Calothrix*
        - *Cyanospira*
        - *Cylindrospermopsis*
        - *Cylindrospermum*
        - *Nodularia*
        - *Nostoc*
        - *Rivularia*
        - *Scytonema*
        - *Tolypothrix*
    - Subseção V
        - *Chlorogloeopsis*
        - *Fischerella*
        - *Geitleria*
        - *Iyengariella*
        - *Nostochopsis*
        - *Stigonema*
- **Filo Chlorobi**
  - Classe I: Chlorobia
    - Ordem I: Chlorobiales
      - Família I: Chlorobiaceae
        - *Ancalochloris*
        - *Chlorobaculum*
        - *Chlorobium*
        - *Chloroherpeton*
        - *Pelodictyon*
        - *Prosthecochloris*
- **Filo Proteobacteria**
  - Classe I: Alphaproteobacteria
    - Ordem I: Rhodospirillales
      - Família I: Rhodospirillaceae
        - *Azospirillum*
        - *Inquilinus*
        - *Magnetospirillum*
        - *Phaeospirillum*
        - *Rhodocista*
        - *Rhodospira*
        - *Rhodospirillum*
        - *Rhodovibrio*
        - *Roseospira*
        - *Skermanella*
        - *Thallassospira*
        - *Tistrella*
      - Família II: Acetobacteraceae
        - *Acetobacter*
        - *Acidiphilium*
        - *Acidisphaera*

---

* *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2ª edição, 5 volumes (2004), é a referência para a classificação. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9ª edição (1994) deve ser utilizado para a identificação de bactérias e arquibactérias cultiváveis.

Acidocella
Acidomonas
Asaia
Craurococcus
Gluconacetobacter
Gluconobacter
Kozakia
Muricoccus
Paracraurococcus
Rhodopila
Roseococcus
Rubritepida
Stella
Teichococcus
Zavarzinia
Ordem II: Rickettsiales
Família I: Rickettsiaceae
Orientia
Rickettsia
Família II: *Anaplasmataceae*
Aegyptianella
Anaplasma
Cowdria
Ehrlichia
Neorickettsia
Wolbachia
Xenohaliotis
Família III: Holosporaceae
Holospora
Gênero incertae sedis
Caedibacter
Lyticum
Odyssella
Pseudocaedibacter
Symbiotes
Tectibacter
Ordem III: Rhodobacterales
Família I: Rhodobacteraceae
Ahrensia
Albidovulum
Amaricoccus
Antarctobacter
Gemmobacter
Hirschia
Hyphomonas
Jannaschia
Ketogulonicigenium
Leisingera
Maricaulis
Methylarcula
Oceanicaulis
Octadecabacter
Pannonibacter
Paracoccus
Pseudorhodobacter
Rhodobaca
Rhodobacter
Rhodothalassium
Rhodovulum
Roseibium
Roseinatronobacter
Roseivivax
Roseobacter
Roseovarius
Roseovivax
Rubrimonas
Ruegeria
Sagittula
Silicibacter
Staleya
Stappia
Sulfitobacter
Ordem IV: Sphingomonadales
Família I: Sphingomonodaceae
Blastomonas
Erythrobacter
Erythromicrobium
Erythromonas
Novosphingobium
Porphyrobacter
Rhizomonas
Sandaracinobacter
Sphingobium
Sphingomonas
Sphingopyxis
Zymomonas
Ordem V: Caulobacterales
Família I: Caulobacteraceae
Asticcacaulis
Brevundimonas
Caulobacter
Phenylobacterium
Ordem VI: Rhizobiales
Família I: Rhizobiaceae
Agrobacterium
Allorhizobium
Carbophilus
Chelatobacter
Ensifer
Rhizobium
Sinorhizobium
Família II: Aurantimonadaceae
Aurantimonas
Fulvimarina
Família III: Bartonellaceae
Bartonella
Família IV: Brucellaceae
Brucella
Mycoplana
Ochrobactrum
Família V: Phyllobacteriaceae
Aminobacter
Aquamicrobium
Defluvibacter
Mesorhizobium
Nitratireductor
Phyllobacterium
Paseuaminobacter
Família VI: Methylocystaceae
Albibacter
Methylocystis
Methylopila
Methylosinus
Terasakiella
Família VII: Beijerinckiaceae
Beijerinckia
Chelatococcus
Methylocapsa
Methylocella
Família VIII: Bradyrhizobiaceae
Afipia
Agromonas
Blastobacter
Bosea
Bradyrhizobium
Nitrobacter
Oligotropha
Rhodoblastus
Rhodopseudomonas
Família IX: Hyphomicrobiaceae
Ancalomicrobium
Ancylobacter
Angulomicrobium
Aquabacter
Azorhizobium
Blastochloris
Devosia
Dichotomicrobium
Filomicrobium
Gemmiger
Hyphomicrobium
Labrys
Methylorhabdus
Pedomicrobium
Prosthecomicrobium
Rhodomicrobium
Rhodoplanes
Seliberia
Starkeya
Xanthobacter
Família X: Methylobacteriaceae
Methylobacterium
Microvirga
Protomonas
Roseomonas
Família XI: Rhodobiaceae
Rhodobium
Roseospirillum
Ordem VII: Parvularculales
Família I: Parvularculaceae
Parvularcula
Classe II: Betaproteobacteria
Ordem I: Burkholderiales
Família I: Burkholderiaceae
Burkholderia
Cupriavidus
Lautropia
Limnobacter
Pandoraea
Paucimonas
Polynucleobacter
Ralstonia
Thermothrix
Wautersia
Família II: Oxalobacteraceae
Duganella
Herbaspirillum
Janthinobacterium
Massilia
Oxalicibacterium
Oxalobacter
Telluria
Família III: Alcaligenaceae
Achromobacter
Alcaligenes
Bordetella
Brackiella
Oligella
Pelistega
Pigmentiphaga
Sutterella
Taylorella
Família IV: Comamonadaceae
Acidovorax
Alicycliphilus
Brachymonas
Caldimonas
Comamonas
Delftia
Diaphorobacter
Hydrogenophaga
Hylemonella
Lampropedia
Macromonas
Ottowia
Polaromonas

Ramlibacter
Rhodoferax
Variovorax
Xenophilus
Gênero incertae sedis
Aquabacterium
Ideonella
Leptothrix
Roseateles
Rubrivivax
Schlegelella
Sphaerotilus
Tepidimonas
Thiomonas
Xylophilus
Ordem II: Hydrogenophilales
Família I: Hydrogenophilaceae
Hydrogenophilus
Thiobacillus
Ordem III: Methylophilales
Família I: Methylophilaceae
Methylobacillus
Methylophilus
Methylovorus
Ordem IV: Neisseriales
Família I: Neisseriaceae
Alysiella
Aquaspirillum
Chromobacterium
Eikenella
Formivibrio
Iodobacter
Kingella
Laribacter
Microvirgula
Morococcus
Neisseria
Prolinoborus
Simonsiella
Vitreoscilla
Vogesella
Ordem V: Nitrosomonadales
Família I: Nitrosomonadaceae
Nitrosolobus
Nitrosomonas
Nitrosospira
Família II: Spirillaceae
Spirillum
Família III: Gallionellaceae
Gallionella
Ordem VI: Rhodocyclales
Família I: Rhodocyclaceae
Azoarcus
Azonexus
Azospira
Azovibrio
Dechloromonas
Dechlorosoma
Ferribacterium
Propionibacter
Propionivibrio
Quadricoccus
Rhodocyclus
Sterolibacterium
Thauera
Zoogloea
Ordem VII: Procabacteriales
Família I: Procabacteriaceae
Procabacter
Classe III: Gammaproteobacteria
Ordem I: Chromatiales
Família I: Chromatiaceae
Allochromatium
Amoebobacter
Chromatium
Halochromatium
Isochromatium
Lamprobacter
Lamprocystis
Marichromatium
Nitrosococcus
Pfennigia
Rhabdochromatium
Rheinheimera
Thermochromatium
Thioalkalicoccus
Thiobaca
Thiocapsa
Thiococcus
Thiocystis
Thiodictyon
Thioflavicoccus
Thiohalocapsa
Thiolamprovum
Thiopedia
Thiorhodococcus
Thiorhodovibrio
Thiospirillum
Família II: Ectothiorhodospiraceae
Alcalilimnicola
Alkalispirillum
Arhodomonas
Ectothiorhodospira
Halorhodospira
Nitrococcus
Thioalkalispira
Thioalkalivibrio
Thiorhodospira
Ordem II: Acidithiobacillales
Família I: Acidithiobacillaceae
Acidithiobacillus
Família II: Thermithiobacillaceae
Thermithiobacillus
Ordem III: Xanthomonadales
Família I: Xanthomonadaceae
Frateuria
Fulvimonas
Luteimonas
Lysobacter
Nevskia
Pseudoxanthomonas
Rhodanobacer
Schineria
Stenotrophomonas
Thermomonas
Xanthomonas
Xylella
Ordem IV: Cardiobacteriales
Família I: Cardiobacteriaceae
Cardiobacterium
Dichelobacter
Suttonella
Ordem V: Thiotrichales
Família I: Thiotrichaceae
Achromatium
Beggiatoa
Leucothrix
Thiobacterium
Thiomargarita
Thioploca
Thiospira
Thiothrix
Família II: Francisellaceae
Francisella
Família III: Piscirickettsiaceae
Cycloclasticus
Hydrogenovibrio
Methylophaga
Piscirickettsia
Thioalkalimicrobium
Thiomicrospira
Ordem VI: Legionellales
Família I: Legionellaceae
Legionella
Família II: Coxiellaceae
Aquicella
Coxiella
Rickettsiella
Ordem VII: Methylococcales
Família I: Methylococcaceae
Methylobacter
Methylocaldum
Methylococcus
Methylomicrobium
Methylomonas
Methylosarcina
Methylosphaera
Ordem VIII: Oceanospirillales
Família I: Oceanospirillaceae
Balneatrix
Marinomonas
Marinospirillum
Neptunomonas
Oceanobacter
Oceanospirillum
Oleispira
Pseudospirillum
Thalassolituus
Família II: Alcanivoraceae
Alcanivorax
Fundibacter
Família III: Hahellaceae
Hahella
Zooshikella
Família IV: Halomonadaceae
Halomonas
Carnimonas
Chromohalobacter
Cobetia
Deleya
Zymobacter
Família V: Oleiphilaceae
Oleiphilus
Família VI: Saccharospirillaceae
Saccharospirillum
Ordem IX: Pseudomonadales
Família I: Pseudomonadaceae
Azomonas
Azotobacter
Cellvibrio
Chryseomonas
Flavimonas
Mesophilobacter
Pseudomonas
Rhizobacter
Rugamonas
Serpens
Família II: Moraxellaceae
Acinetobacter
Moraxella
Psychrobacter
Família III: Incertae sedis
Enhydrobacter
Ordem X: Alteromonadales
Família I: Alteromonadaceae
Aestuariibacter

Alishewanella
Alteromonas
Colwellia
Ferrimonas
Glaciecola
Idiomarina
Marinobacter
Marinobacterium
Microbulbifer
Moritella
Pseudoalteromonas
Psychromonas
Shewanella
Thalassomonas
Família II: Incerta sedis
Teredinibacter
Ordem XI: Vibrionales
Família I: Vibrionaceae
Allomonas
Catenococcus
Enterovibrio
Grimontia
Listonella
Photobacterium
Salinivibrio
Vibrio
Ordem XII: Aeromonadales
Família I: Aeromonadaceae
Aeromonas
Oceanimonas
Oceanisphaera
Tolumonas
Família II: Succinivibrionaceae
Anaerobiospirillum
Ruminobacter
Succinomonas
Succinivibrio
Ordem XIII: Enterobacteriales
Família I: Enterobacteriaceae
Alterococcus
Arsenophonus
Brenneria
Buchnera
Budvicia
Buttiauxella
Calymmatobacterium
Cedecea
Citrobacter
Edwardsiella
Enterobacter
Erwinia
Escherichia
Ewingella
Hafnia
Klebsiella
Kluyvera
Leclercia
Leminorella
Moellerella
Morganella
Obesumbacterium
Pantoea
Pectobacterium
Phlomobacter
Photorhabdus
Plesiomonas
Pragia
Proteus
Providencia
Rahnella
Raoultella
Saccharobacter
Salmonella
Samsonia
Serratia
Shigella
Sodalis
Tatumella
Trabulsiella
Wigglesworthia
Xenorhabdus
Yersinia
Yokenella
Ordem XIV: Pasteurellales
Família I: Pasteurellaceae
Actinobacillus
Gallibacterium
Haemophilus
Lonepinella
Pasteurella
Mannheimia
Phocoenobacter
Classe IV: Deltaproteobacteria
Ordem I: Desulfurellales
Família I: Desulfurellaceae
Desulfurella
Hippea
Ordem II: Desulfovibrionales
Família I: Desulfovibrionaceae
Bilophila
Desulfovibrio
Lawsonia
Família II: Desulfomicrobiaceae
Desulfomicrobium
Família III: Desulfohalobiaceae
Desulfohalobium
Desulfomonaas
Desulfonatronovibrio
Desulfothermus
Família IV: Desulfonatronumaceae
Desulfonatronum
Ordem III: Desulfobacterales
Família I: Desulfobacteraceae
Desulfatibacillum
Desulfobacter
Desulfobacterium
Desulfobacula
Desulfobotulus
Desulfocella
Desulfococcus
Desulfofaba
Desulfofrigus
Desulfomusa
Desulfonema
Desulforegula
Desulfosarcina
Desulfospira
Desulfotignum
Família II: Desulfobulbaceae
Desulfobulbus
Desulfocapsa
Desulfofustis
Desulforhopalus
Desulfotalea
Família III: Nitrospinaceae
Nitrospina
Ordem IV: Desulfarcales
Família I: Desulfarculaceae
Desulfarculus
Ordem V: Desulfuromonales
Família I: Desulfuromonaceae
Desulfuromonas
Desulfuromusa
Malonomonas
Pelobacter
Família II: Geobacteraceae
Geobacter
Trichlorobacter
Ordem VI: Syntrophobacterales
Família I: Syntrophobacteraceae
Desulfacinum
Syntrophobacter
Desulforhabdus
Desulfovirga
Thermodesulforhabdus
Família II: Syntrophaceae
Desulfobacca
Smithella
Syntrophus
Ordem VII: Bdellovibrionales
Família I: Bdellovibrionaceae
Bacteriovorax
Bdellovibrio
Micavibrio
Vampirovibrio
Ordem VIII: Myxococcales
Família I: Cystobacteraceae
Anaeromyxobacter
Archangium
Cystobacter
Hyalangium
Melittangium
Stigmatella
Família II: Myxococcaceae
Corallococcus
Myxococcus
Pyxicoccus
Família III: Polyangiaceae
Byssophaga
Chondromyces
Haploangium
Jahnia
Polyangium
Sorangium
Família IV: Nannocystaceae
Nannocystis
Plesiocystis
Família V: Haliangiaceae
Haliangium
Família VI: Kofleriaceae
Kofleria
Classe V: Epsilonproteobacteria
Ordem I: Campylobacterales
Família I: Campylobacteraceae
Arcobacter
Campylobacter
Dehalospirillum
Sulfurospirillum
Família II: Helicobacteraceae
Helicobacter
Sulfurimonas
Thiovulum
Wolinella
Filo Firmicutes
Classe I: Bacilli
Ordem I: Bacillales
Família I: Bacillaceae
Alkalibacillus
Amphibacillus
Anoxybacillus
Bacillus
Cerasibacillus
Filobacillus
Geobacillus
Gracilibacillus
Halobacillus

Haloactibacillus
Lentibacillus
Marinicoccus
Oceanobacillus
Paraliobacillus
Saccharococus
Tenuibacillus
Thalassobacillus
Virgibacillus
Família II: Alicyclobacillaceae
Alicyclobacillus
Família III: Listeriaceae
Brochothrix
Listeria
Família IV: Paenibacillaceae
Ammoniphilus
Aneurinibacillus
Brevibacillus
Cohnella
Oxalophagus
Paenibacillus
Thermobacillus
Família VI: Planococcaceae
Caryophanon
Filibacter
Jeotgalibacillus
Kurthia
Marinibacillus
Planomicrobium
Planococcus
Planomicrobium
Sporosarcina
Ureibacillus
Família VII: Sporolactobacillaceae
Sporolactobacillus
Família VIII: Staphylococcaceae
Jeotgalicoccus
Macrococcus
Salinicoccus
Staphylococcus
Família IX: Thermoactinomycetaceae
Thermoactinomyces
Laceyella
Mechercharimyces
Planifilum
Seinonella
Shimazuella
Thermoflavimicrobium
Incertae Sedis
Exiguobacterium
Gemella
Thermicanus
Ordem II: Lactobacillales
Família I: Lactobacillaceae
Lactobacillus
Paralactobacillus
Pediococcus
Família II: Aerococcaceae
Abiotrophia
Aerococcus
Dolosicoccus
Eremococcus
Facklamia
Globicatella
Ignavigranum
Família III: Carnobacteriaceae
Alkalibacterium
Allofustis
Alloiococcus
Atopobacter
Atopococcus
Atopostipes
Carnobacterium
Desemzia
Dolosigranulum
Granulicatella
Isobaculum
Marinilactibacillus
Trichococcus
Família IV: Enterococcaceae
Enterococcus
Melissococcus
Tetragenococcus
Vagococcus
Família V: Leuconostocaceae
Leuconostoc
Oenococcus
Weissella
Família VI: Streptococcaceae
Lactococcus
Lactovum
Streptococcus
Classe II: Clostridia
Ordem I: Clostridiales
Família I: Clostridiaceae
Alkaliphilus
Anaerobacter
Anoxynatronum
Caloramator
Caloranaerobacter
Caminicella
Clostridium
Natronincola
Oxobacter
Sarcina
Thermobrachium
Thermohalobacter
Tindallia
Família V: Lachnospiraceae
Acetitomaculum
Anaerostipes
Bryantella
Butyrivibrio
Catonella
Dorea
Hespellia
Johnsonella
Lachnobacterium
Moryella
Oribacterium
Parasporobacterium
Lachnospira
Pseudobutyrivibrio
Roseburia
Shuttleworthia
Sporobacterium
Syntrophococcus
Família VII: Peptostreptococcaceae
Filifactor
Peptostreptococcus
Tepidibacter
Família II: Eubacteriaceae
Acetobacterium
Acetobacterium
Alkalibacter
Anaerofustis
Eubacterium
Garciella
Pseudoramibacter
Família VI: Peptococcaceae
Cryptanaerobacter
Dehalobacter
Desulfitobacterium
Desulfonispora
Desulfosporosinus
Desulfotomaculum
Pelotomaculum
Peptococcus
Syntrophobotulus
Thermincola
Família III: *Gracilibacteraceae*
Gracilibacter
Família IV: Heliobacteriaceae
Heliobacterium
Heliobacillus
Heliophilum
Heliorestis
Família VIII: Ruminococcaceae
Ruminococcus
Família X: Veillonellaceae
Acetonema
Acidaminococcus
Allisonella
Anaeroarcus
Anaeroglobus
Anaeromusa
Anaerosinus
Anaerovibrio
Centipeda
Dendrosporobacter
Dialister
Megasphaera
Mitsuokella
Pectinatus
Phascolarctobacterium
Propionispira
Propionispora
Quinella
Schwartzia
Selenomonas
Sporomusa
Succiniclasticum
Succinispira
Thermosinus
Veillonella
Zymophilus
Incertae Sedis
Anaerococcus
Finegoldia
Gallicola
Fusibacter
Família IX: Syntrophomonadaceae
Pelospora
Syntrophomonas
Syntrophospora
Syntrophothermus
Thermosyntropha
Ordem III: Thermoanaerobacteriales
Família I: Thermoanaerobacteriaceae
Ammonifex
Caldanaerobacter
Carboxydibrachium
Coprothermobacter
Gelria
Moorella
Thermacetogenium
Thermanaeromonas
Thermoanaerobacter
Incertae Sedis
Caldicellulosiruptor
Mahell
Thermoanaerobacterium
Thermosediminibacter
Thermovenabulum
Ordem II: Halanaerobiales
Família I: Halanaerobiaceae

Halanaerobium
Halocella
Halothermothrix
Família II: Halobacteroidaceae
Acetohalobium
Halanaerobacter
Halonatronum
Natroniella
Orenia
Selenihalanaerobacter
Sporohalobacter
Filo Tenericutes
Ordem I: Mycoplasmatales
Família I: Mycoplasmataceae
Eperythrozoon
Haemobartonella
Mycoplasma
Ureaplasma
Ordem II: Entomoplasmatales
Família I: Entomoplasmataceae
Entomoplasma
Mesoplasma
Família II: Spiroplasmataceae
Spiroplasma
Ordem III: Acholeplasmatales
Família I: Acholeplasmataceae
Acholeplasma
Phytoplasma
Ordem IV: Anaeroplasmatales
Família I: Anaeroplasmataceae
Anaeroplasma
Asteroleplasma
Filo Actinobacteria
Classe I: Actinobacteria
Ordem I: Acidimicrobiales
Família I: Acidimicrobiaceae
Acidimicrobium
Ordem II: Rubrobacterales
Conexibacter
Rubrobacter
Solirubrobacter
Thermoleophilum
Ordem III: Coriobacteriales
Família I: Coriobacteriaceae
Atopobium
Collinsella
Coriobacterium
Cryptobacterium
Denitrobacterium
Eggerthella
Olsenella
Slackia
Ordem IV: Sphaerobacterales
Família I: Sphaerobacteraceae
Sphaerobacter
Ordem V: Actinomycetales
Subordem: Actinomycineae
Família I: Actinomycetaceae
Actinobaculum
Actinomyces
Arcanobacterium
Mobiluncus
Varibaculum
Subordem: Micrococcineae
Família I: Micrococcaceae
Arthrobacter
Citricoccus
Kocuria
Micrococcus
Nesterenkonia
Renibacterium
Rothia
Stomatococcus
Yania
Família II: Bogoriellaceae
Bogoriella
Família III: Rarobacteraceae
Rarobacter
Família IV: Sanguibacteraceae
Sanguibacter
Família V: Brevibacteriaceae
Brevibacterium
Família VI: Cellulomonadaceae
Cellulomonas
Oerskovia
Tropheryma
Família VII: Dermabacteraceae
Brachybacterium
Dermabacter
Família VIII: Dermatophilaceae
Dermatophilus
Kineosphaera
Família IX: Dermacoccaceae
Dermacoccus
Demetria
Kytococcus
Família X: Intrasporangiaceae
Arsenicicoccus
Intrasporangium
Janibacter
Nostocoidia
Ornithinicoccus
Ornithinimicrobium
Terrabacter
Terracoccus
Tetrasphaera
Família XI: Jonesiaceae
Jonesia
Família XII: Microbacteriaceae
Agrococcus
Agromyces
Aureobacterium
Clavibacter
Cryobacterium
Curtobacterium
Frigoribacterium
Leifsonia
Leucobacter
Microbacterium
Rathayibacter
Subtercola
Família XIII: Beutenbergiaceae
Beutenbergia
Georgenia
Salana
Família XIV: Promicromonosporaceae
Cellulosimicrobium
Promicromonospora
Xylanibacterium
Xylanimonas
Subordem: Corynebacterineae
Família I: Corynebacteriaceae
Corynebacterium
Família II: Dietziaceae
Dietzia
Família III: Gordoniaceae
Gordonia
Skermania
Família IV: Mycobacteriaceae
Mycobacterium
Família V: Nocardiaceae
Nocardia
Rhodococus
Família VI: Tsukamurellaceae
Tsukamurella
Família VII: Williamsiaceae
Williamsia
Subordem: Micromonosporineae
Família I: Micromonosporaceae
Actinoplanes
Asanoa
Catellatospora
Catenuloplanes
Couchioplanes
Dactylosporangium
Micromonospora
Pilimelia
Spirilliplanes
Verrucosispora
Virgisporangium
Subordem: Propionibacterineae
Família I: Propionibacteriaceae
Luteococcus
Microlunatus
Propionibacterium
Propioniferax
Propionimicrobium
Tessaracoccus
Família II: Nocardioidaceae
Aeromicrobium
Actinopolymorpha
Friedmanniella
Hongia
Kribbella
Micropruina
Marmoricola
Nocardioides
Propionicimonas
Subordem: Pseudonocardineae
Família I: Pseudonocardiaceae
Actinoalloteichus
Actinopolyspora
Amycolatopsis
Crossiella
Kibdelosporangium
Kutzneria
Prauserella
Pseudonocardia
Saccharomonospora
Saccharopolyspora
Streptoalloteichus
Thermobispora
Thermocrispum
Família II: Actinosynnemataceae
Actinokineospora
Actinosynnema
Lechevalieria
Lentzea
Saccharothrix
Subordem: Streptomycineae
Família I: Streptomycetaceae
Kitasatospora
Streptomyces
Streptoverticillium
Subordem: Streptosporangineae
Família I: Streptosporangiaceae
Acrocarpospora
Herbidospora
Microbispora
Microtetraspora
Nonomuraea
Planobispora
Planomonospora
Planopolyspora
Planotetraspora
Streptosporangium

Família II: Nocardiopsaceae
Nocardiopsis
Streptomonospora
Thermobifida
Família III: Thermomonosporaceae
Actinomadura
Spirillospora
Thermomonospora
Subordem: Frankineae
Família I: Frankiaceae
Frankia
Família II: Geodermatophilaceae
Blastococcus
Geodermatophilus
Modestobacter
Família III: Microsphaeraceae
Microsphaera
Família IV: Sporichthyaceae
Sporichthya
Família V: Acidothermaceae
Acidothermus
Família VI: Kineosporiaceae
Cryptosporangium
Kineococcus
Kineosporia
Subordem: Glycomycineae
Família I: Glycomycetaceae
Glycomyces
Ordem VI: Bifidobacteriales
Família I: Bifidobacteriaceae
Aeriscardovia
Bifidobacterium
Falcivibrio
Gardnerella
Parascardovia
Scardovia
Família II: Filiação desconhecida
Actinobispora
Actinocorallia
Excellospora
Pelczaria
Turicella
Filo Planctomycetes
Ordem I: Planctomycetales
Família I: Planctomycetaceae
Gemmata
Isosphaera
Pirellula
Planctomyces
Filo Chlamydiae
Ordem I: Chlamydiales
Família I: Chlamydiaceae
Chlamydia
Chlamydophila
Família II: Parachlamydiaceae
Neochlamydia
Parachlamydia
Família III: Simkaniaceae
Rhabdochlamydia
Simkania
Família IV: Waddliaceae
Waddlia
Filo Spirochaetes
Classe I: Spirochaetes
Ordem I: Spirochaetales
Família I: Spirochaetaceae
Borrelia
Brevinema
Clevelandina
Cristispira
Diplocalyx
Hollandina
Pillotina
Spirochaeta
Treponema
Família II: Serpulinaceae
Brachyspira
Serpulina
Família III: Leptospiraceae
Leptonema
Leptospira
Filo Fibrobacteres
Classe I: Fibrobacteres
Família I: Fibrobacteraceae
Fibrobacter
Filo Acidobacteria
Família I: Acidobacteriaceae
Acidobacterium
Geothrix
Holophaga
Filo Bacteroidetes
Classe I: Bacteroidetes
Ordem I: Bacteroidales
Família I: Bacteroidaceae
Acetofilamentum
Acetomicrobium
Acetothermus
Anaerophaga
Anaerorhabdus
Bacteroides
Megamonas
Família II: Rikenellaceae
Alistipes
Marinilabilia
Rikenella
Família III: Porphyromonadaceae
Dysgonomonas
Porphyromonas
Tannerella
Família IV: Prevotellaceae
Prevotella
Classe II: Flavobacteria
Ordem I: Flavobacteriales
Família I: Flavobacteriaceae
Aequorivita
Arenibacter
Bergeyella
Capnocytophaga
Cellulophaga
Chryseobacterium
Coenonia
Croceibacter
Empedobacter
Flavobacterium
Gelidibacter
Gillisia
Mesonia
Muricauda
Myroides
Ornithobacterium
Polaribacter
Psychroflexus
Psychroserpens
Riemerella
Saligentibacter
Tenacibaculum
Weeksella
Zobellia
Família II: Blattabacteriaceae
Blattabacterium
Classe III: Sphingobacteria
Ordem I: Sphingobacteriales
Família I: Sphingobacteriaceae
Pedobacter
Sphingobacterium
Família II: Saprospiraceae
Haliscomenobacter
Lewinella
Saprospira
Família III: Flexibacteraceae
Belliella
Cyclobacterium
Cytophaga
Dyadobacter
Flectobacillus
Flexibacter
Hongiella
Hymenobacter
Meniscus
Microscilla
Reichenbachia
Runella
Spirosoma
Sporocytophaga
Família IV: Flammeovirgaceae
Flammeovirga
Flexithrix
Persicobacter
Thermonema
Família V: Crenotrichaceae
Chitinophaga
Crenothrix
Rhodothermus
Salinibacter
Toxothrix
Filo Fusobacteria
Classe I: Fusobacteria
Ordem I: Fusobacteriales
Família I: Fusobacteriaceae
Fusobacterium
Ilyobacter
Leptotrichia
Propionigenium
Sebaldella
Sneathia
Streptobacillus
Família II: Incertae sedis
Cetobacterium
Filo Verrucomicrobia
Classe I: Verrucomicrobiae
Opitutus
Prosthecobacter
Verrucomicrobium
Victivallis
Xiphinematobacter
Filo Dictyoglomi
Classe I: Dictyoglomi
Ordem I: Dictyoglomales
Família I: Dictyoglomaceae
Dictyoglomus
Filo Gemmatimonadetes
Classe I: Gemmatimonadetes
Ordem I: Gemmatimonadales
Gemmatimonas

GLOSSÁRIO

Abscesso: acúmulo localizado de pus.
Abuso de temperatura: estocagem imprópria de alimentos em temperaturas que permitem o crescimento bacteriano.
Ação oligodinâmica: habilidade de determinados compostos de metais pesados de exercer atividade antimicrobiana.
Aceptor de elétrons: íon que recebe elétrons perdidos por outro átomo.
Ácido: uma substância que se dissocia em um ou mais íons hidrogênio (H^+) e em um ou mais íons negativos.
Ácido Desoxirribonucleico (DNA): ácido nucleico do material genético de todas as células e alguns vírus.
Ácido micólico: longas cadeias de ácidos graxos ramificados, características de membros do gênero *Mycobacterium*.
Ácido nucleico: macromolécula composta por nucleotídeos; DNA e RNA são ácidos nucleicos.
Ácido ribonucleico (RNA): classe de ácidos nucleicos que inclui o RNA mensageiro, o RNA ribossomal e o RNA transportador.
Ácido teicoico: polissacarídeo encontrado na parede de bactérias gram-negativas.
Acidófila: uma bactéria que cresce em condições de pH abaixo de 4,0.
Adenossarcoma: câncer de tecido epitelial glandular.
Aderência: fixação de um micróbio ou fagócito à membrana plasmática ou a outra superfície.
Adesina: proteína que se liga especificamente a carboidratos e que se projeta de células procarióticas; usada para aderência, também chamada de ligante.
Adjuvante: substância adicionada a vacinas com o propósito de aumentar sua eficiência.
Aeróbico obrigatório (estrito): organismo que requer oxigênio molecular (O_2) para viver.
Aeróbico: organismo que requer oxigênio molecular (O_2) para seu crescimento.
Aflatoxina: toxina carcinogênica produzida por *Aspergillus flavus*.
Ágar: polissacarídeo complexo derivado de uma alga marinha e usado como agente solidificante em meios de cultura.
Ágar nutriente: caldo nutriente contendo ágar.
Agente ativo de superfície: qualquer composto que diminui a tensão entre moléculas dispostas na superfície de um líquido; também chamado de surfactante.
Agente descolorante: solução utilizada no processo de remoção de um corante.
Agente tríplex: fragmento curto de DNA que se liga a uma área-alvo da fita dupla de DNA, impedindo a transcrição.
Aglutinação: agrupamento ou aglomeração de células.
Agranulócito: leucócito sem a presença de grânulos visíveis no citoplasma; inclui monócitos e linfócitos.
Alarmônio: sinal químico que promove uma resposta celular ao estresse ambiental.
Álcool: uma molécula orgânica que possui um grupo funcional –OH.
Aldeído: uma molécula inorgânica que contém o grupo funcional

Alérgeno: antígeno que evoca uma resposta de hipersensibilidade.
Alergia: *veja* hipersensibilidade.
Alga: eucarioto fotossintético; pode ser unicelular, filamentoso ou multicelular, porém não possui os tecidos encontrados nas plantas.
Algina: sal sódico de ácido manurônico ($C_6H_8O_6$); encontrado em algas marrons.
Alilamina: agente antifúngico que interfere na síntese de esteroides.
Amanitina: toxina polipeptídica produzida por *Amanita* spp.; inibe a RNA-polimerase.
Aminação: adição de um grupo amina.
Aminoácido: ácido orgânico contendo um grupo amina e um grupo carboxílico. Em α-aminoácidos, os grupos amina e carboxílico estão ligados a um mesmo átomo de carbono, denominado carbono α.
Aminoglicosídeo: antibiótico que consiste em açúcares aminados e um anel aminociclitol; por exemplo, estreptomicina.
Amonificação: liberação de amônia de compostos orgânicos contendo nitrogênio por ação de micro-organismos.
AMP cíclico (cAMP): molécula derivada do ATP na qual o grupo fosfato apresenta estrutura cíclica; age como mensageiro celular.
Amplitude de hospedeiro: espectro de espécies, cepas ou tipos celulares que um patógeno pode infectar.
Anabolismo: todas as reações de síntese em um organismo vivo; construção de moléculas orgânicas complexas a partir de outras mais simples.
Anaeróbico: um organismo que não requer oxigênio molecular (O_2) para seu crescimento.
Anaeróbico aerotolerante: organismo que não usa o oxigênio molecular (O_2), mas não é afetado por sua presença.
Anaeróbico facultativo: organismo que pode crescer na presença ou na ausência de oxigênio molécula (O_2).
Anaeróbico obrigatório (estrito): organismo que não usa oxigênio molecular (O_2) e não sobrevive na presença de O_2.
Anafilaxia: uma reação de hipersensibilidade envolvendo anticorpos IgE, mastócitos e basófilos.
Anafilaxia localizada: reação de hipersensibilidade imediata restrita a uma área limitada da pele ou membrana mucosa; por exemplo, febre do feno, uma erupção da pele, ou asma; *veja também* anafilaxia.
Anafilaxia sistêmica: reação de hipersensibilidade que causa vasodilatação e resulta em choque; também chamada de choque anafilático.
Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC): sistema de prevenção de perigos para a segurança de alimentos.
Análogo de nucleotídeo: composto químico que é estruturalmente similar aos nucleosídeos normais dos ácidos nucleicos, mas que apresenta propriedades de pareamento de bases alteradas.
Anamorfos: fungos ascomicetos que perderam a habilidade de se reproduzir sexuadamente; estágio assexuado de um fungo.
Anel β-lactâmico: estrutura central da penicilina.
Anfitríqueo: apresenta flagelos nas duas extremidades da célula.
Ângstron (Å): unidade de medida igual a 10^{-10} m, ou 0,1 nm.
Animal sentinela: organismo no qual mudanças podem ser medidas com o objetivo de se avaliar a extensão de uma contaminação ambiental e sua implicação para a saúde humana.
Animalia: reino composto de eucariotos multicelulares que não contêm parede celular.
Ânion: íon de carga negativa.
Ânion peróxido: ânion de oxigênio consistindo de dois átomos de oxigênio (O_2^{2-}).
Anoxigênico: que não produz oxigênio molecular; típico de fotofosforilação cíclica.
Antagonismo: oposição ativa; (1) quando duas drogas são menos eficientes que qualquer uma delas individualmente, (2) competição entre micróbios.
Antibiograma: teste de suscetibilidade de uma bactéria a antibióticos.
Antibiótico: agente antimicrobiano, normalmente produzido por uma bactéria ou um fungo.
Antibiótico de amplo espectro: antibiótico eficiente contra uma ampla variedade de bactérias gram-positivas e gram-negativas.
Anticódon: sequência de três nucleotídeos pela qual um tRNA reconhece um códon no mRNA.
Anticorpo: proteína produzida pelo organismo em resposta a um antígeno; e capaz de se ligar especificamente àquele antígeno.
Anticorpo humanizado: anticorpos monoclonais que são proteínas parcial ou totalmente humanas.
Anticorpo monoclonal (Mab): anticorpo específico, produzido *in vitro*, por um clone de células B hibridado com células cancerosas.
Anticorpo monoclonal conjugado: *veja* imunotoxina.
Anticorpo monoclonal quimérico: anticorpo geneticamente alterado constituído de regiões constantes humanas e regiões variáveis murinas.
Antígeno: qualquer substância capaz de induzir a geração de anticorpos; também chamado de imunógeno.
Antígeno de histocompatibilidade: antígeno na superfície de células humanas.
Antígeno de transplante tumor-específico (TSTA): antígeno viral na superfície de uma célula transformada.
Antígeno O: antígeno polissacarídico presente na membrana externa de bactérias gram-negativas e identificado por testes sorológicos.
Antígeno T-dependente: antígeno que estimula a produção de anticorpos apenas com a assistência de células T auxiliares; *veja também* antígeno T-independente.

Antígeno T-independente: antígeno que estimula a produção de anticorpos sem a assistência de células T auxiliares; *veja também* antígeno T-dependente.
Antígeno T: antígeno no núcleo de uma célula tumoral.
Antígenos H: antígenos flagelares de bactérias entéricas, identificados por testes sorológicos.
Antimetabólito: inibidor competitivo.
Antissepsia: método químico de desinfecção da pele ou da membrana mucosa; o agente químico é chamado de antisséptico.
Antissoro: fluido derivado do sangue e que contém anticorpos.
Antitoxina: anticorpo específico produzido pelo organismo em resposta a uma exotoxina bacteriana ou seu toxoide.
Apoenzima: porção proteica de uma enzima que requer ativação por uma coenzima.
Apoptose: morte natural programada de uma célula; os fragmentos residuais são eliminados pelos fagócitos.
Apressório: base ramificada do talo de algas.
Aquecimento global: retenção de calor solar por gases na atmosfera.
Arbúsculo: micélio fúngico presente nas raízes de plantas.
Archaea: domínio cujas células procarióticas não possuem peptideoglicanos; um dos três domínios.
Arranjo 9 + 2: arranjo dos microtúbulos em flagelos e cílios; 9 pares de microtúbulos mais 2 microtúbulos.
Artroconídio: esporo fúngico assexuado formado pela fragmentação de hifas septadas.
Asco: estrutura em forma de saco contendo ascósporos, encontrada nos ascomicetos.
Ascósporo: esporo fúngico sexuado produzido em um asco formado por um ascomiceto.
Assepsia: ausência de contaminação por organismos indesejáveis.
Átomo: a menor unidade de matéria a entrar em uma reação química.
Atríquia: bactéria que não possui flagelos.
Autoclave: equipamento para esterilização por vapor sob pressão, normalmente operado a 15 psi e 121°C.
Autotrófico: organismo que utiliza o dióxido de carbono (CO_2) como sua principal fonte de carbono. Quimioautotrófico, fotoautotrófico.
Auxotrófico: micro-organismo mutante que apresenta requerimentos nutricionais ausentes nos progenitores.
Azóis: agentes antifúngicos que interferem na síntese de esterol.
Bacilo: (1) qualquer bactéria em forma de bastonete; (2) quando relacionado ao gênero bacteriano (*Bacillus*) se refere à bactéria em forma de bastonete, formadora de endosporo, anaeróbica facultativa e gram-positiva.
Bacteremia: condição na qual bactérias são encontradas no sangue.
Bacteria: domínio de organismos procariotos, caracterizados por apresentarem paredes celulares contendo peptideoglicanos.
Bactéria gram-negativa: bactéria que perde a cor do cristal violeta após descoloração por álcool; ela se cora de vermelho após tratamento com safranina.
Bactéria gram-positiva: bactéria que retém a cor do cristal violeta após descoloração por álcool; ela se cora de púrpura-escuro.
Bactérias púrpuras não sulfurosas: Alfaproteobactérias; fototróficas e anaeróbicas estritas; crescem em extrato de levedura no escuro; utilizam compostos sulfúricos reduzidos como doadores de elétrons para fixação do CO_2.
Bactérias verdes não sulfurosas: bactérias gram-negativas não pertencentes ao filo Proteobacteria; anaeróbicas estritas e fototróficas; utilizam compostos orgânicos como doadores de elétrons para a fixação de CO_2.
Bactericida: substância capaz de matar bactérias.
Bacteriocinas: peptídeo antimicrobiano produzido por uma bactéria e capaz de matar outra bactéria.
Bacterioclorofila: pigmento fotossintético que transfere elétrons para a fotofosforilação, encontrado em bactérias anaeróbicas fotossintéticas.
Bacteriófago (fago): vírus que infecta células bacterianas.
Bacteriologia: estudo científico dos procariotos, incluindo bactérias e arquibactérias.
Bacteriostase: tratamento capaz de inibir o crescimento bacteriano.
Barreira hematoencefálica: membranas celulares que permitem a passagem de certas substâncias do sangue para o cérebro enquanto bloqueiam a passagem de outras.
Base: substância que se dissocia em um ou mais íons hidróxido (OH^-) e um ou mais íons positivos.
Basídio: pedúnculo que produz basidiósporos; encontrado em basidiomicetos.
Basidiósporo: esporo fúngico sexuado produzido em um basídio, característico de basidiomicetos.
Basófilo: granulócito (leucócito) que absorve rapidamente corantes básicos e não é fagocítico; apresenta receptores para a porção Fc de IgE.

Beta-oxidação: remoção de duas unidades de carbono de um ácido graxo formando acetil-CoA.
Biblioteca genômica: coleção de fragmentos de DNA clonados, criada pela inserção de fragmentos de restrição em uma bactéria, levedura ou fago.
Bifosfato de adenosina (ADP): substância formada quando o ATP é hidrolisado e energia é liberada.
Bioaumento: uso de micróbios adaptados à poluição ou geneticamente modificados para fins de biorremediação.
Biocida: substância capaz de matar micro-organismos.
Bioconversão: mudanças em materiais orgânicos causadas pelo crescimento de micro-organismos.
Biodisco rotativo: método de tratamento secundário de esgoto no qual grandes discos são girados enquanto parcialmente submersos em um tanque, expondo o esgoto a micro-organismos e condições aeróbicas.
Bioestimuladores: nutrientes, como os nitratos e os fosfatos, que promovem o crescimento microbiano.
Biofilme: comunidade microbiana que normalmente forma uma camada limosa em uma superfície.
Biogênese: teoria na qual células vivas se originam apenas de células preexistentes.
Bioinformática: ciência que determina a função de genes por análises assistidas por computador.
Biologia molecular: ciência que lida com o DNA e a síntese proteica em organismos vivos.
Bioluminescência: emissão de luz pela cadeia transportadora de elétrons; requer a enzima luciferase.
Biomassa: matéria orgânica produzida por um organismo e medida pelo seu peso.
Biorreator: recipiente para fermentação no qual as condições ambientais são controladas, como temperatura e pH.
Biorremediação: uso de micróbios para remover um poluente ambiental.
Biossintético: *veja* anabolismo.
Biotecnologia: aplicação industrial de micro-organismos, células ou componentes celulares para gerar um produto útil.
Biotipo: *veja* biovar.
Biovar: subgrupo de um sorovar cuja determinação tem como base propriedades bioquímicas ou fisiológicas; também chamado de biótipo.
Blastoconídio: esporo fúngico assexuado produzido pelo brotamento a partir de uma célula parental.
Bolhas: vesículas grandes e cheias de soro que se formam na pele.
Brotamento: (1) reprodução assexuada que inicia com a formação de uma protuberância na superfície de uma célula parental e que cresce, se tornando uma célula-filha; (2) liberação de um vírus envelopado através da membrana citoplasmática de uma célula animal.
Bubo: linfonodo aumentado em virtude de uma inflamação.
Bursa de Fabrício: órgão das galinhas que é responsável pela maturação do sistema imune.
Cadeia transportadora de elétrons, sistema transportador de elétrons: série de compostos que transportam elétrons de um composto para outro, gerando ATP por fosforilação oxidativa.
Caldo nutriente: meio complexo feito de extrato de carne e peptona.
Camada eletrônica: região de um átomo onde elétrons orbitam ao redor do núcleo; corresponde ao nível de energia.
Camada limosa: glicocálice desorganizado e frouxamente ligado à parede celular.
Câmara hiperbárica: aparato que mantém materiais em pressões superiores a uma atmosfera.
Cancro: nódulo de aspecto sólido cujo centro se ulcera.
Capnófilo: micro-organismo que cresce melhor em concentrações de CO_2 relativamente altas.
Capsídeo: invólucro proteico de um vírus que circunda seu ácido nucleico.
Capsômero: subunidade proteica de um capsídeo viral.
Cápsula: cobertura externa e viscosa de algumas bactérias, composta de polissacarídeos e polipeptídeos.
Carbapenemos: antibióticos que contêm um antibiótico β-lactâmico e cilastatina.
Carboidrato: composto orgânico constituído de carbono, hidrogênio e oxigênio, com hidrogênio e oxigênio presentes na proporção 2:1; carboidratos incluem amido, açúcares e celulose.
Carboxissomo: inclusão procariótica que contém ribulose-1,5-difosfato-carboxilase.
Carcinogênico: qualquer substância capaz de causar câncer.
Cariogamia: fusão dos núcleos de duas células; ocorre no estágio sexuado do ciclo vital de fungos.
Carreadores: organismos (normalmente se refere a seres humanos) que abrigam patógenos e os transmitem a outros.

Caseína: proteína do leite.
Catabolismo: todas as reações de decomposição em um organismo vivo; quebra de compostos orgânicos complexos em moléculas mais simples.
Catalase: enzima que quebra o peróxido de hidrogênio: $2H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$.
Catalista: substância que aumenta a velocidade de uma reação química permanecendo inalterada durante o processo.
Cátion: íon positivamente carregado.
CD (de cluster of determination): número atribuído a um epítopo de um único antígeno, como a proteína CD4, encontrada na superfície de células T auxiliares.
cDNA (DNA complementar): DNA sintetizado *in vitro* a partir de um molde de mRNA.
Célula apresentadora de antígeno (APC): macrófago, célula dendrítica ou célula B que engolfa um antígeno e apresenta fragmentos dele para células T.
Célula assassina natural (*natural killer* – NK): célula linfoide que destrói células tumorais e células infectadas por vírus.
Célula B: tipo de linfócito; se diferencia em plasmócitos, produtores de anticorpos, e em células de memória.
Célula dendrítica: tipo de célula apresentadora caracterizada por conter longas projeções em forma de dedos; encontrada em tecidos linfáticos e na pele.
Célula diploide: célula que possui dois grupos de cromossomos; diploide é o estado normal de células eucarióticas.
Célula doadora: célula que doa DNA a uma célula recipiente durante a recombinação gênica.
Célula haploide: célula eucariótica ou organismo que contém um de cada tipo de cromossomo.
Célula Hfr: célula bacteriana na qual o fator F se tornou integrado ao cromossomo; Hfr significa *alta frequência de recombinação* (de *high frequency of recombination*).
Célula M (M de *microfold*): célula intestinal que absorve e transfere antígenos para os linfócitos.
Célula recipiente: célula que recebe DNA de uma célula doadora durante a recombinação genética.
Célula T: tipo de linfócito que se desenvolve a partir de uma célula-tronco processada no timo e que é responsável pela imunidade mediada por células; *veja também* células T citotóxicas, células T auxiliares, células T reguladoras.
Célula T auxiliar (T_H): célula T especializada que frequentemente interage com um antígeno antes que células B interajam com ele.
Célula-alvo: célula infectada à qual células defensivas do sistema imune se ligam.
Célula-tronco: célula indiferenciada que origina uma variedade de células especializadas.
Célula-tronco embrionária: célula de um embrião que tem o potencial de se diferenciar em uma variedade de tipos celulares especializados.
Células de memória: células B ou T de vida longa responsáveis pela resposta de memória ou secundária.
Células T citotóxicas (T_C): células T especializadas que destroem células infectadas apresentando antígenos.
Células T reguladoras (T_{reg}): linfócitos que surgem para suprimir outras células T.
Células-chave: células vaginais descamadas recobertas por *Gardnerella vaginallis*.
Centríolo: estrutura composta por nove trincas de microtúbulos, encontrada em células eucarióticas.
Centros de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention – CDC): ramo do Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos que funciona como fonte central de informações em epidemiologia.
Centrossomo: região de uma célula eucarióticas que consiste em uma área pericentriolar (fibras proteicas) e um par de centríolos; envolvido na formação do fuso mitótico.
Cepa: células geneticamente diferentes dentro de um clone; *veja* sorovar.
Cercária: larva livre-natante de trematodos.
Cerveja: bebida alcoólica gerada pela fermentação de cevada.
Cetolídeo: antibiótico macrolídico semissintético; eficiente contra bactérias resistentes aos macrolídeos.
Chave dicotômica: esquema de identificação com base em perguntas pareadas sucessivas; a resposta a uma questão leva a outro par de questões até a identificação do organismo.
Chip de DNA: plataforma sílica que contém sondas de DNA; utilizado para reconhecer DNA em amostras sendo testadas.
Choque: qualquer queda na pressão sanguínea que coloque a vida em risco; *veja também* choque séptico.
Choque endotóxico (choque endotoxêmico): *veja* sepse gram-negativa.
Choque séptico: queda súbita da pressão sanguínea induzida pela presença de toxinas bacterianas.
Cianobactéria: procariotos autotróficos produtores de oxigênio.
Ciclo biogeoquímico: reciclagem de elementos químicos por micro-organismos para uso posterior por outros organismos.
Ciclo de Calvin-Benson: fixação de CO_2 em compostos orgânicos reduzidos; usado pelos autótrofos.
Ciclo de Krebs: via que converte um composto de dois carbonos em CO_2 com a transferência de elétrons para moléculas de NAD^+ ou outros carreadores; também chamado de ciclo do ácido tricarboxílico ou ciclo do ácido cítrico.
Ciclo do carbono: série de processos naturais que convertem o CO_2 em compostos orgânicos e estes novamente em CO_2.
Ciclo do enxofre: os vários estágios de oxidação e redução do enxofre no meio ambiente; principalmente por ação de micro-organismos.
Ciclo do fósforo: os vários estágios de solubilidade do fósforo no meio ambiente.
Ciclo do nitrogênio: série de processos, na natureza, que converte nitrogênio (N_2) em substâncias orgânicas e de volta a nitrogênio.
Ciclo lisogênico: estágios do desenvolvimento viral que resultam na incorporação do DNA viral ao DNA do hospedeiro.
Ciclo lítico: mecanismo de multiplicação bacteriofágica que resulta na lise da célula hospedeira.
Cílio: projeção celular relativamente curta de algumas células eucarióticas, compostas por nove pares mais dois microtúbulos; *veja* flagelo.
Cinase: (1) enzima que remove um P de um ATP e o liga a outra molécula. (2) Enzima bacteriana que quebra a fibrina (coágulos sanguíneos).
Cinina: substância liberada por células teciduais e que causa vasodilatação.
Cirurgia asséptica: técnicas usadas em cirurgias para prevenir a contaminação microbiana do paciente.
Cis: átomos de hidrogênio localizados no mesmo lado em uma ligação dupla de ácidos graxos; *veja* trans.
Cisterna: estrutura sacular achatada e membranosa presente no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi.
Cisticerco: cisto contendo larva da tênia ou solitária.
Cisto: saco de parede distinta contendo fluido ou outro material; cápsula protetora de alguns protozoários.
Citocina: pequena proteína, liberada por células humanas, que regula a resposta imune; de forma direta ou indireta, pode induzir febre, dor ou proliferação de células T.
Citocromo: proteína que funciona como um carreador de elétrons durante a respiração celular fotossíntese.
Citocromo c-oxidase: enzima que oxida o citocromo c.
Citoesqueleto: microfilamentos, filamentos intermediários e microtúbulos que provêm suporte e movimento para o citoplasma eucariótico.
Citólise: destruição celular, resultante do dano à membrana citoplasmática, que causa o extravasamento do conteúdo intracelular.
Citometria de fluxo: método de contagem de células usando um citômetro de fluxo, capaz de detectar células pela presença de partículas fluorescentes em sua superfície.
Citoplasma: em uma célula procariótica, corresponde a todo conteúdo dentro da membrana citoplasmática; em uma célula eucariótica, corresponde a todo conteúdo dentro da membrana citoplasmática e externo ao núcleo.
Citosol: parte fluida do citoplasma.
Citóstomo: abertura em forma de boca de alguns protozoários.
Citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC): destruição de células opsonizadas por anticorpos por ação de células *natural killer* ou leucócitos.
Citotoxina: toxina bacteriana que mata células hospedeiras ou altera sua função.
Clado: grupo de organismos que compartilham um determinado ancestral comum; ramo de um cladograma.
Cladograma: árvore filogenética dicotômica que se ramifica repetidamente sugerindo a classificação de organismos com base em uma sequência temporal na qual os ramos evolutivos surgiram.
Clamidoconídio: esporo fúngico sexuado formado dentro de uma hifa.
Classe: grupo taxonômico localizado entre filo e ordem.
Clone: população de células oriundas de uma única célula parental.
Clorofila *a*: pigmento fotossintético que transfere elétrons para a fotofosforilação; encontrada em plantas, algas e cianobactérias.
Cloroplasto: organela que realiza a fotossíntese em eucariotos fotoautotróficos.
Clorossomo: dobramentos da membrana citoplasmática de bactérias verdes sulfurosas que contêm bacterioclorofila.
Coagulase: enzima bacteriana que induz a coagulação do plasma sanguíneo.
Coalhada: parte sólida do leite que se separa da parte líquida (soro) durante, por exemplo, a produção de queijo.
Cocobacilos: bactérias em formato de bacilo ovalado.
Cocos: bactérias de formato esférico ou ovalado.
Código genético: os códons nos mRNAs e os aminoácidos que eles codificam.

Códon: sequência de três nucleotídeos em um mRNA que especifica a inserção de um aminoácido em um polipeptídeo.
Códon ativo: códon que codifica para um aminoácido.
Códon sem sentido: códon que não codifica aminoácidos.
Coenzima: substância não constituída por uma proteína e que se associa a uma enzima, ativando-a.
Coenzima A (CoA): coenzima que funciona durante a descarboxilação.
Coenzima Q: *veja* ubiquinona.
Cofator: (1) substância não proteica componente de uma enzima; (2) um micro-organismo ou molécula que age em conjunto com outras, intensificando sinergisticamente ou causando uma doença.
Colagenase: enzima que hidrolisa o colágeno.
Coliformes: bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, gram-negativas, incapazes de formar endosporos, em formato de bacilo e que fermentam a lactose com produção de ácido e gás em 48 horas a 35°C.
Colônia: massa visível de células microbianas que se formam a partir de uma única célula ou um grupo de células do mesmo micróbio.
Coloração: processo de se corar uma amostra com um corante para visualizá-la ao microscópio ou para se visualizar estruturas específicas.
Coloração ácido-resistente: coloração diferencial usada para identificar bactérias que não são descoloridas por ácido-álcool.
Coloração de Gram: coloração diferencial que classifica as bactérias em dois grupos, gram-positivas e gram-negativas.
Coloração diferencial: método de coloração que distingue objetos de acordo com reações com o procedimento de coloração.
Coloração negativa: procedimento que resulta em uma bactéria incolor contraposta a um fundo corado.
Coloração simples: método de coloração de micro-organismos com um único corante simples.
Comensalismo: relação simbiótica na qual dois organismos convivem em associação e um é beneficiado enquanto o outro não apresenta prejuízo ou benefício.
Competência: estado fisiológico no qual uma célula receptora pode absorver e incorporar porções grandes de DNA doador.
Complemento: grupo de proteínas séricas envolvidas na fagocitose e na lise de bactérias.
Complexo antígeno-anticorpo: combinação de um antígeno com um anticorpo específico ao primeiro; base da proteção imune e de muitos testes diagnósticos.
Complexo de ataque à membrana (MAC): proteínas C5-C9 do complemento que, juntamente, causam lesões na membrana citoplasmática e levam à morte celular.
Complexo de Golgi: organela envolvida na secreção de certas proteínas.
Complexo do antígeno leucocitário humano (*human leukocyte antigen* – HLA): antígeno da superfície celular humana. *Veja também* complexo principal de histocompatibilidade.
Complexo enzima-susbtrato: união temporária entre uma enzima e seu substrato.
Complexo principal de histocompatibilidade (*major histocompatibility complex* – MHC): genes que codificam antígenos de histocompatibilidade; também conhecido como complexo do antígeno leucocitário humano (HLA).
Composição de bases do DNA: percentual molar de guaninas e citosinas no DNA de um organismo.
Compostagem: método de tratamento de lixo sólido, normalmente material de origem vegetal, por sua decomposição por micróbios.
Composto: substância composta por dois ou mais elementos químicos diferentes.
Composto de amônio quaternário (quat): detergente catiônico que possui quatro grupos orgânicos conectados a um átomo de nitrogênio central; usado como desinfetante.
Composto inorgânico: pequena molécula que não contém carbono ou hidrogênio.
Composto orgânico: molécula que contém carbono e hidrogênio.
Concentração bactericida mínima (CBM): a menor concentração de um agente quimioterápico capaz de matar um micro-organismo-teste.
Concentração inibitória mínima (CIM): a menor concentração de um agente quimioterápico capaz de inibir o crescimento de um micro-organismo-teste.
Condensador: sistema de lentes localizado abaixo da platina e que direciona os raios de luz através do espécime.
Configuração eletrônica: arranjo de elétrons em camadas ou níveis de energia em um átomo.
Congelamento profundo: preservação de culturas bacterianas em temperaturas de –50 a –90°C.
Congelamento-dessecação: *veja* liofilização.
Congênito: referente a uma condição existente ao nascimento, podendo ser herdada ou adquirida no útero.
Conídio: esporo assexuado produzido em cadeia a partir do conidióforo.
Conidióforo: hifa aérea que contém os conidiósporos.
Conidiósporo: *veja* conídio.
Conjugação: transferência de material genético de uma célula para outra pelo contato entre elas.
Contagem de placa: método de determinação do número de células bacterianas em uma amostra pela contagem do número de unidades formadoras de colônia em um meio de cultura sólido.
Contagem diferencial de glóbulos brancos: número de cada tipo de leucócito em uma amostra contendo 100 leucócitos.
Contagem microscópica direta: enumeração de células pela observação em um microscópio.
Contracoloração: um segundo corante aplicado a um esfregaço e que permite contraste ao primeiro corante.
Conversão fágica: mudança genética na célula hospedeira que resulta da infecção por um bacteriófago.
Conversão lisogênica: aquisição de novas propriedades por uma célula hospedeira infectada por um bacteriófago.
Corante acídico: um sal no qual a pigmentação está no íon negativo; usado para coloração negativa.
Corante básico: sal no qual a cor é gerada pelo íon positivo; usado para a coloração bacteriana.
Corpúsculo de inclusão: grânulo ou partícula viral no citoplasma ou núcleo de algumas células infectadas; importante na identificação de vírus que causam infecção.
Corpúsculo elementar: forma infecciosa da clamídia.
Corpúsculo reticulado: estágio de crescimento intracelular de clamídias.
Corrente citoplasmática (ciclose): movimento do citoplasma em uma célula eucariótica.
Correpressor: molécula que se liga a um repressor proteico permitindo que este se ligue a um operador.
Córtex: cobertura fúngica protetora de um líquen.
Crise: fase febril caracterizada por vasodilatação e sudorese.
Crista: dobramento da membrana interna de uma mitocôndria.
Cromatina: filamento de DNA não condensado presente em uma célula eucariótica interfásica.
Cromatóforo: invaginação da membrana plasmática de bactérias fotoautotróficas onde a bacterioclorofila se localiza; também conhecido como tilacoide.
Cromossomo: estrutura que carrega a informação hereditária; cromossomos contêm genes.
***Crossing over* (entrecruzamento)[*]:** processo pelo qual uma porção de um cromossomo é trocada por uma porção de outro cromossomo.
CTL (linfócito T citotóxico): célula T_C ativada; elimina células que apresentam antígenos endógenos.
Cultura: micro-organismo que cresce e se multiplica em um recipiente contendo meio de cultura.
Cultura celular: células eucarióticas cultivadas em meio de cultura; também chamada de cultura de tecidos.
Curva de crescimento bacteriano: gráfico que indica o crescimento de uma população bacteriana em função do tempo.
Cutícula: cobertura externa dos helmintos.
D-isômero: arranjo de quatro diferentes átomos ou grupos ao redor de um átomo de carbono; *veja* L-isômero.
Debridamento: remoção cirúrgica de tecido necrótico.
Defensinas: pequenos peptídeos antibióticos produzidos por células humanas.
Degeneração: redundância do código genético; significa que a maioria dos aminoácidos é codificada por diversos códons.
Degerminação: remoção de micro-organismos em uma área.
Degradação anaeróbica termofílica: degradação de alimentos acondicionados em embalagens devido ao crescimento de bactérias termofílicas.
Degranulação: liberação do conteúdo de grânulos secretores de mastócitos ou basófilos durante a anafilaxia.
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO): medida da quantidade de matéria orgânica biodegradável na água.
Dermatófito: fungo que causa micose cutânea.
Dermatomicose: infecção fúngica da pele, também chamada de tínea.
Derme: porção interna da pele.
Desaminação: remoção de um grupo amino de um aminoácido para formar amônia; *veja também* amonificação.
Descarboxilação: remoção de um CO_2 de um aminoácido.

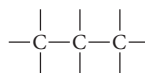
* N. de T. Embora o termo entrecruzamento exista, a palavra inglesa *crossing over* é consensualmente utilizada sem tradução pela literatura técnico-científica na língua portuguesa.

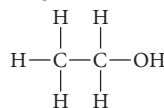
Desidrogenação: perda de átomos de hidrogênio em um substrato.
Desinfecção: qualquer tratamento usado em um objeto inanimado para matar ou inibir o crescimento de micro-organismos; a substância química utilizado é chamada de desinfetante.
Desnaturação: mudança na estrutura molecular de uma proteína, normalmente deixando-a sem função.
Desnitrificação: redução do nitrogênio em nitrato para nitrito ou para gás nitrogênio.
Desnudamento: separação do ácido nucleico viral de seu invólucro proteico.
Desoxirribose: açúcar de cinco carbonos contido em moléculas de DNA.
Dessecação: remoção de água.
Dessensibilização: prevenção da resposta inflamatória alérgica.
Deterioração por acidez plana: deterioração termofílica de produtos enlatados não acompanhada de produção de gás.
Determinante antigênico: região específica na superfície de um antígeno contra a qual anticorpos são formados; também chamado de epítopo.
Determinantes R: grupo de genes que codificam para resistência a antibióticos carreados em fatores R.
DI_{50}: número de micro-organismos necessários para produzir uma infecção demonstrável em 50% da população experimental de hospedeiros.
Diapedese: processo pelo qual leucócitos se movem para fora dos vasos sanguíneos.
Difusão: movimento global de moléculas ou íons de uma área de maior concentração para uma área de menor concentração.
Difusão facilitada: movimento de uma substância de uma área de maior concentração para uma área de menor concentração, através da membrana citoplasmática, mediado por proteínas transportadoras.
Digestor de lodo anaeróbico: digestão anaeróbica usada em tratamentos secundários de esgoto.
Diluição seriada: processo de diluição sucessiva de uma amostra.
Dimorfismo sexual: aparência distinta entre organismos adultos machos e fêmeas.
Dimorfismo: propriedade de apresentar duas formas de crescimento; *veja também* dimorfismo sexual.
Dioécio: referente a organismos nos quais órgãos dos diferentes sexos estão localizados em indivíduos diferentes.
Diplobacilos: bastonetes que se dividem e permanecem ligados, formando pares.
Diplococos: cocos que se dividem e permanecem ligados, formando pares.
Disenteria: doença caracterizada por diarreia aquosa e frequente, contendo sangue e muco.
Dissacarídeo: açúcar composto por dois açúcares mais simples ou monossacarídeos.
Dissimilação: processo metabólico no qual nutrientes não são assimilados, mas excretados como amônia, sulfeto de hidrogênio, etc.
Dissociação: separação de um composto em íons positivos e negativos em uma solução.
DL_{50}: dose letal para 50% dos hospedeiros experimentalmente inoculados dentro de um determinado período.
DNA antissenso: sequência de DNA complementar ao DNA codificador de uma proteína; o transcrito mRNA antissenso se pareia com o mRNA codificador da proteína e inibe a síntese proteica.
DNA complementar (cDNA): DNA produzido *in vitro* a partir de um molde de mRNA.
DNA recombinante (rDNA): molécula de DNA produzida pela combinação de DNA proveniente de duas fontes diferentes.
DNA-girase: *veja* topoisomerase.
DNA-ligase: enzima que liga covalentemente um átomo de carbono de um nucleotídeo ao fosfato de outro nucleotídeo.
DNA-polimerase: enzima que sintetiza DNA a partir da cópia de um DNA-molde.
Doador de elétrons: íon que doa elétrons para outro átomo.
Doença: estado anormal no qual parte ou todo o organismo não está propriamente ajustado ou é incapaz de exercer suas funções normais; qualquer mudança a partir de uma condição de saúde.
Doença aguda: uma doença na qual os sintomas se desenvolvem rapidamente, porém duram apenas pouco tempo.
Doença autoimune: dano aos próprios tecidos por ação do sistema imune.
Doença comunicante: qualquer doença que pode se espalhar de um hospedeiro a outro.
Doença contagiosa: doença transmitida facilmente de uma pessoa à outra.
Doença do enxerto contra o hospedeiro (graft-*versus*-host – GVH): condição na qual um tecido transplantado apresenta uma resposta imune contra o tecido recipiente.
Doença endêmica: doença constantemente presente em uma determinada população.
Doença epidêmica: doença adquirida por muitos hospedeiros em uma determinada área e em um curto período.
Doença esporádica: doença que ocorre ocasionalmente em uma população.
Doença infecciosa emergente (DIE): doença nova ou modificada que apresenta aumento de sua incidência ou aumento potencial de incidência.
Doença infecciosa notificável: doença que deve ser relatada pelos médicos ao serviço de saúde pública norte-americano*; também conhecida como doença relatável.
Doença infecciosa: doença na qual patógenos invadem um hospedeiro suscetível e passam pelo menos parte de seu ciclo vital dentro deste hospedeiro.
Doença latente: doença caracterizada por um período de ausência de sintomas e patógeno inativo.
Doença não comunicante: doença que não é transmitida de uma pessoa a outra.
Doença pandêmica: epidemia de ocorrência mundial.
Doença subaguda: doença com sintomas intermediários entre uma doença aguda e uma doença crônica.
Domínio: classificação taxonômica com base em sequências de rRNA; acima do nível de Reino.
Droga sintética: agente quimioterápico preparado a partir de substâncias químicas em um laboratório.
Ecologia: estudo das inter-relações entre organismos e seu ambiente.
Edema: acúmulo anormal de líquido intersticial em partes do corpo ou tecidos, causando inchaço.
Efeito citopático (ECP): efeito visível em uma célula hospedeira, causado por um vírus, que pode resultar em dano à célula ou sua morte.
Elemento químico: substância fundamental composta de átomos que apresentam o mesmo número atômico e se comportam quimicamente da mesma forma.
Elemento-traço: elemento químico necessário em pequenas quantidades para o crescimento.
Eletroforese em gel: separação de substâncias (como proteínas séricas ou DNA) com base na sua taxa de movimentação através de um campo elétrico.
Elétron: partícula negativamente carregada que se move ao redor do núcleo de um átomo.
Eletroporação: técnica em que DNA é inserido dentro de uma célula usando uma corrente elétrica.
Elevador ciliar: células mucosas ciliares do trato respiratório inferior que transportam partículas inaladas para longe dos pulmões.
ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – ensaio imunoadsorvente ligado à enzima): grupo de testes sorológicos que usam reações enzimáticas como indicadores.
Embolhamento (*blebbing*):** geração de bolhas e ondulações da membrana plasmática durante a morte celular.
Enantema: erupções em membranas mucosas; *veja também* exantema.
Encefalite: infecção cerebral.
Encistamento: formação de um cisto.
Endocardite: infecção na camada tecidual que envolve o coração (endocárdio).
Endocitose: processo pelo qual material é transportado para dentro de uma célula eucariótica.
Endoflagelo: *veja* filamento axial.
Endógeno: (1) infecção causada por um patógeno oportunista oriundo da microbiota do próprio indivíduo; (2) antígenos gerados dentro de uma célula e degradados em fragmentos, normalmente de origem viral.
Endolito: organismo que vive dentro de rochas.
Endosporo: estrutura dormente que se forma dentro de algumas bactérias.
Endotoxina: parte da porção externa da parede celular (lipídeo A) da maioria das bactérias gram-negativas; liberada após destruição da célula.
Energia de ativação: energia de colisão mínima necessária para que uma reação química ocorra.
Energia química: energia de uma reação química.
Engenharia genética: *veja* tecnologia do DNA recombinante.
Ensaio do lisado de amebócitos do Limulus (LAL): teste para detecção da presença de endotoxinas bacterianas.
Ensaio imunoadsorvente ligado à enzima: *veja* ELISA.

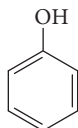
* N. de T. No Brasil existem situações semelhantes, onde determinadas infecções são de notificação obrigatória pelos médicos ou veterinários, seja junto a autoridades de saúde pública (tais como secretarias estaduais ou ministério da saúde) ou junto a autoridades de controle agropecuário.

** N. de T. A palavra da língua inglesa *blebbing* não tem um sinônimo em português. A tradução mais adequada seria "formação de bolhas", entretanto o neologismo "embolhamento" tem sido usado em algumas referências bibliográficas na língua portuguesa.

Entérica: nome comum dado a uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*.
Enterotoxinas: exotoxinas que causam gastrenterites, como aquelas produzidas por *Staphylococcus*, *Vibrio* e *Escherichia*.
Envasamento asséptico: preservação de alimentos comerciais em que embalagens estéreis são preenchidas com alimentos estéreis.
Envelope: camada externa que envolve o capsídeo de alguns vírus.
Envelope nuclear: membrana dupla que separa o núcleo do citoplasma em uma célula eucariótica.
Enzima: molécula que catalisa reações bioquímicas em um organismo vivo, sendo normalmente uma proteína; *veja também* ribozima.
Enzima constitutiva: enzima que é produzida continuamente.
Enzima de reparo luminoso: *veja* fotoliase.
Enzima de restrição: enzima que cliva DNA de fita dupla em sítios específicos entre nucleotídeos.
Eosinófilo: granulócito cujos grânulos absorvem o corante eosina.
Epidemiologia: ciência que estuda quando e onde doenças ocorrem e como elas são transmitidas.
Epidemiologia analítica: comparação entre um grupo doente e um grupo saudável para a determinação da causa de uma doença.
Epidemiologia descritiva: coleção e análise de todos os dados relativos à ocorrência de uma doença com o objetivo de determinar a sua causa.
Epidemiologia experimental: estudo de uma doença por experimentos controlados.
Epiderme: porção mais externa da pele.
Epíteto específico: o segundo nome ou nome específico em uma nomenclatura binomial; *veja também* espécie.
Epítopo: *veja* determinante antigênico.
Equilíbrio: ponto de distribuição igualitária.
Esclerótio: massa compacta de micélio endurecido do fungo *Claviceps purpurea* que preenche flores de centeio infectadas; é responsável pela produção da toxina ergot.
Escólex: cabeça da solitária, contendo ventosas e possivelmente ganchos.
Esferoplasto: bactéria gram-negativa tratada para que sua parede celular seja danificada, resultando em uma célula esférica.
Esfregaço: tênue filme de material contendo micro-organismos espalhados na superfície de uma lâmina.
Espécie: nível mais específico na hierarquia taxonômica; *veja também* espécie bacteriana, espécie eucariótica, espécie viral.
Espécie eucariótica: grupo de organismos estreitamente relacionados que podem se reproduzir.
Espécie procariótica: população de células que apresentam certas sequências de rRNA em comum; em testes bioquímicos convencionais, se refere a uma população de células com características similares.
Espécie viral: grupo de vírus que apresentam a mesma informação genética e nicho ecológico.
Especificidade: percentual de resultados falso-positivos em um teste diagnóstico.
Espectro de atividade microbiana: amplitude de tipos de micro-organismos diferentes afetados por uma droga antimicrobiana; uma larga amplitude se refere um amplo espectro de atividade.
Espícula HA (hemaglutinina): projeções antigênicas da bicamada lipídica externa do vírus Influenza.
Espícula: glicoproteína que se projeta da superfície de certos vírus.
Espícula: uma dentre duas estruturas externas de um verme redondo macho utilizado para guiar o esperma.
Espículas NA (neuraminidase): projeções antigênicas da bicamada lipídica externa do vírus Influenza.
Espiral: *veja* espirilo ou espiroqueta.
Espirilo: (1) bactéria helicoidal ou em forma de rosca; (2) quando escrito como gênero (*Spirillum*), se refere à bactéria helicoidal, aeróbica, que apresenta grupos de flagelos polares.
Espiroquetas: bactéria em forma de rosca que apresenta filamentos axiais.
Esporângio: estrutura sacular que contém um ou mais esporos.
Esporangióforo: hifa aérea que suporta o esporângio.
Esporangiósporo: esporo fúngico assexuado que se forma dentro do esporângio.
Esporo: estrutura reprodutiva formada por fungos e actinomicetos. *Veja também* endosporo.
Esporo assexuado: célula reprodutiva gerada por mitose e divisão celular (eucariotos) ou por fissão binária (actinomicetos).
Esporo sexual: esporo formado pela reprodução sexuada.
Esporogênese: *veja* esporulação.
Esporozoíto: trofozoíto de *Plasmodium* encontrado em mosquitos; infeccioso para seres humanos.
Esporulação: processo de formação de esporos e endosporos; também chamada de esporogênese.
Esqueleto de carbono: cadeia ou anel de átomos de carbono em uma molécula; por exemplo,

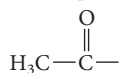
$$\begin{array}{ccccccc} & | & & | & & | & \\ - & C & - & C & - & C & - \\ & | & & | & & | & \end{array}$$

Esquizogonia: processo de fissão múltipla pelo qual um organismo se divide para produzir muitas células-filhas.
Estafilococos: cocos agrupados em massas semelhantes a cachos de uva ou folhas amplas.
Estágio de anel: trofozoíto jovem de *Plasmodium* que se assemelha a um anel dentro de um eritrócito.
Estereoisômeros: duas moléculas constituídas pelos mesmos átomos, arranjados da mesma maneira, mas diferindo em suas posições relativas; imagens espelhadas, também chamadas de D-isômeros e L-isômeros.
Estéril: livre de micro-organismos.
Esterilização: remoção de todos os micro-organismos, incluindo endosporos.
Esterilização comercial: processo de tratamento de produtos enlatados com o objetivo de eliminar endosporos do *Clostridium botulinum*.
Esterilização por ar quente: esterilização pelo uso de um forno com aquecimento a 170°C por cerca de duas horas.
Esteroide: grupo específico de lipídeos que inclui colesterol e hormônios.
Estreptobacilo: bastonetes que permanecem conectados em cadeia após sua divisão.
Estreptocinase: enzima que dissolve coágulos sanguíneos, produzida por estreptococos β-hemolíticos.
Estreptococo: (1) cocos que permanecem conectados em cadeia após sua divisão; (2) quando escrito como gênero (*Streptococcus*), se refere a bactérias gram-positivas e catalase-negativas.
Estreptolisina: enzima hemolítica produzida por estreptococos.
Etambutol: agente antimicrobiano sintético que interfere na síntese de RNA.
Etanol:

$$\begin{array}{ccccccc} & & H & & H & & \\ & & | & & | & & \\ H & - & C & - & C & - & OH \\ & & | & & | & & \\ & & H & & H & & \end{array}$$

Etiologia: estudo da causa de uma doença.
Eucarioto: célula contendo DNA dentro de um núcleo envolto por membrana distinta.
Eukarya: todos os eucariotos (animais, plantas, fungos e protistas); membros do domínio Eukarya.
Eutroficação (eutrofização): adição de matéria orgânica e subsequente remoção de oxigênio em um corpo de água.
Exantema: erupções na pele; *veja também* enantema.
Exclusão competitiva: crescimento de determinados micróbios impedindo o crescimento de outros.
Éxon: região do cromossomo eucariótico que codifica uma proteína.
Exotoxina: toxina proteica liberada por células bacterianas vivas, normalmente gram-positivas.
Extremófilo: micro-organismo que vive em ambientes de temperatura, acidez, alcalinidade, salinidade ou pressão extrema.
Extremozimas: enzimas produzidas por extremófilos.
FAD (flavina adenina dinucleotídeo): coenzima que funciona na remoção e na transferência de íons hidrogênio (H^+) e elétrons a partir de substratos.
Fago: *veja* bacteriófago.
Fago temperado: fago capaz de causar lisogenia.
Fagócito: célula capaz de engolfar e digerir partículas que são perigosas para o organismo.
Fagocitose: ingestão de partículas sólidas por uma célula eucariótica.
Fagolisossomo: vacúolo digestivo.
Fagossomo: vacúolo alimentar de um fagócito; também chamado de vesícula fagocítica.
Fagotipagem: método de identificação bacteriana que usa cepas específicas de bacteriófagos.
Faloidina: toxina peptídica produzida pela *Amanita phalloides*; afeta a função da membrana plasmática.
FAME (metil éster de ácido graxo): identificação de micróbios pela presença de ácidos graxos específicos.
Família: grupo taxonômico entre ordem e gênero.
Fascíola: verme pertencente à classe Trematoda.
Fase de crescimento exponencial: *veja* fase log.
Fase de declínio logarítmico: *veja* fase de morte.

Fase de morte: período de decréscimo logarítmico em uma população bacteriana; também chamada de fase de decréscimo logarítmico.
Fase estacionária: período da curva de crescimento bacteriano quando o número de células em divisão é igual ao número de células morrendo.
Fase lag: intervalo de tempo em uma curva de crescimento bacteriano durante a qual não há crescimento.
Fase log: período de crescimento bacteriano ou aumento exponencial do número de células; também chamada de fase exponencial.
Fator de crescimento orgânico: composto orgânico essencial que um organismo é incapaz de sintetizar.
Fator de necrose tumoral (TNF): polipeptídeo liberado por fagócitos em resposta a endotoxinas bacterianas.
Fator de predisposição: qualquer coisa que torne o organismo mais suscetível a uma doença ou altere o curso da mesma.
Fator de resistência (R): plasmídeo bacteriano que carreia genes determinantes de resistência a antibióticos.
Fator de transferência de resistência (FTR): grupo de genes que codificam para replicação e conjugação dos fatores R.
Fator estimulador de colônia (CSF): substância que induz a proliferação ou a diferenciação de determinadas células.
Fator F (fator de fertilidade): plasmídeo encontrado na célula doadora durante a conjugação bacteriana.
Fator Rh: antígeno de eritrócitos de macacos Rhesus e da maioria dos humanos; sua presença faz com que a célula seja Rh+.
Fator V: NAD^+ ou $NADP^+$.
Fator X: substâncias da fração heme de hemoglobinas sanguíneas.
Febre: temperatura corporal anormalmente alta.
Fenol:

também chamado de ácido carbólico.
Fenólico: derivado sintético do fenol utilizado como desinfetante.
Fenótipo: manifestação externa do genótipo ou constituição genética de um organismo.
Fermentação alcoólica: processo catabólico, iniciado pela glicólise, que produz álcool etílico para reoxidar NADH.
Fermentação lática: processo catabólico que inicia com a glicólise e que produz ácido lático para reoxidar o NADH.
Fermentação malolática: conversão do ácido málico em ácido lático pela ação de bactérias láticas.
Fermentação: degradação enzimática de carboidratos na qual o aceptor final de elétrons é uma molécula orgânica, ATP é sintetizado a partir da fosforilação ao nível do substrato e O_2 não é requerido.
Fibrinolisina: cinase produzida por estreptococos.
Filamento axial: estrutura para mobilidade encontrada em espiroquetas, também chamada de endoflagelo.
Filo: classificação taxonômica entre reino e classe.
Filogenia: história evolutiva de um grupo de organismos; as relações filogenéticas são relações evolutivas.
Filtração: passagem de um líquido ou gás através de um material seletivo; um filtro com poros de 0,45 μm é capaz de remover a maioria das bactérias.
Filtro biológico: método de tratamento secundário de esgoto no qual este é aspergido através de braços rotativos em uma superfície rochosa ou de material similar, expondo o esgoto a condições altamente aeróbicas e a micro-organismos.
Filtro de ar particulado de alta eficiência (filtro HEPA): material semelhante a uma malha que remove partículas maiores que 0,3 μm do ar.
Fímbria: apêndice de células bacterianas utilizado para aderência.
FISH (hibridização fluorescente *in situ*, de *fluorescent in situ hybridization*): utilização de sondas de rRNA para identificar micróbios sem a necessidade de cultivá-los.
Fissão binária: reprodução de células procarióticas pela divisão em duas células-filhas.
Fita antissenso (fita–): RNA viral que não pode funcionar como um mRNA.
Fita atrasada: fita-filha sintetizada descontinuamente durante a replicação do DNA.
Fita senso (fita +): RNA viral que funciona como mRNA.
Fita-líder: fita-filha sintetizada continuamente durante a replicação do DNA.
Fitoplâncton: fotoautótrofos flutuantes.
Fixação: (1) no caso de preparação de lâminas, consiste no processo de adesão de um espécime à lâmina; (2) com relação a elementos químicos, consiste na combinação de elementos, de modo que um elemento crítico possa entrar na cadeia alimentar. *Veja também* ciclo de Calvin-Benson; fixação de nitrogênio.
Fixação do carbono: síntese de açúcares pela utilização do carbono presente em moléculas de CO_2; *veja também* ciclo de Calvin-Benson.
Fixação do complemento: processo pelo qual proteínas do complemento se combinam com o complexo antígeno-anticorpo.
Fixação do nitrogênio: conversão do nitrogênio (N_2) em amônia.
Flagelo: apêndice delgado localizado na superfície de uma célula; usado para locomoção celular; composto de flagelina em células procarióticas; composto de 9 + 2 microtúbulos em células eucarióticas.
Flagelo polar: flagelo presente em uma ou ambas as extremidades celulares.
Flambagem: processo de esterilização de uma alça de platina em que esta é mantida em uma chama.
Flavoproteína: proteína que contém a coenzima flavina; funciona como carreadora de elétrons em uma cadeia transportadora de elétrons.
Floculação: remoção de material coloidal durante a purificação da água pela adição de químicos que causam a coalescência de partículas coloidais.
Fluorescência: propriedade de uma substância de gerar luz de uma determinada cor quando exposta à luz de outra cor.
Flutuação antigênica: pequena variação na estrutura antigênica do vírus Influenza que ocorre sazonalmente.
Fluxo contínuo: processo de fermentação industrial no qual células são multiplicadas indefinidamente pela adição contínua de nutrientes e pela remoção de produtos e dejetos.
FMN (flavina mononucleotídeo): coenzima que funciona na transferência de elétrons em uma cadeia transportadora de elétrons.
Foliculite: infecção de folículos pilosos; frequentemente se manifesta como espinhas.
Fômite: objeto inanimado que pode transmitir uma infecção.
Foresporo: estrutura que consiste em cromossomo, citoplasma e membrana do endosporo, dentro de uma célula bacteriana.
Forma L: células procarióticas que não possuem parede celular; eventualmente podem voltar a possuir parede celular.
Forquilha de replicação: ponto onde as fitas do DNA se separam e novas fitas são sintetizadas.
Fosfolipídeo: lipídeo complexo composto de glicerol, dois ácidos graxos e um grupo fosfato.
Fosforilação: adição de um grupo fosfato a uma molécula orgânica.
Fosforilação ao nível do substrato: síntese de ATP pela transferência direta de um grupo fosfato de alta energia de um composto metabólico intermediário para um ADP.
Fosforilação oxidativa: síntese de ATP acoplada ao transporte de elétrons.
Foto-heterotrófico: organismo que utiliza a luz como fonte de energia e uma fonte de carbono orgânica.
Fotoautotrófico: organismo que utiliza a luz como fonte de energia e o dióxido de carbono (CO_2) como fonte de carbono.
Fotofosforilação: produção de ATP em uma série de reações redox; elétrons da clorofila iniciam as reações.
Fotofosforilação acíclica: movimento de um elétron da clorofila para NAD^+; fotofosforilação de plantas e cianobactérias.
Fotofosforilação cíclica: movimento de um elétron da clorofila através de uma série de aceptores de elétrons e de volta à clorofila; anoxigênica; fotofosforilação de bactérias púrpuras e verdes.
Fotoliase: enzima que quebra dímeros de timina na presença de luz visível.
Fotossíntese: conversão da energia da luz solar em energia química; síntese de carboidratos a partir de dióxido de carbono (CO_2) dependente de luz.
Fototaxia: movimento em resposta à presença de luz.
Fototrófico: organismo que utiliza a luz como fonte primária de energia.
Fulminante: uma condição que se desenvolve e se agrava rapidamente.
Fungo: organismo que pertence ao Reino Fungi; eucarioto quimio-heterotrófico absortivo.
Furúnculo: infecção de um folículo piloso.
Fusão de protoplastos: método de fusão de duas células primeiramente pela remoção de sua parede celular; usada em engenharia genética.
Fusão: fusão da membrana plasmática de duas células diferentes resultando na formação de uma célula contendo citoplasma de ambas as células originais.
Gamaglobulina*: fração sérica contendo imunoglobulinas (anticorpos); também chamada de globulina sérica imune.

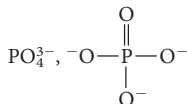
* N. de T. O termo composto gama globulina também é encontrado, com mesmo significado, na língua portuguesa.

Gameta: célula reprodutiva de um macho ou uma fêmea.
Gametócito: célula de protozoário com características de macho ou fêmea.
Gastrenterite: inflamação do estômago e do intestino.
Gene estrutural: gene que determina a sequência de aminoácidos de uma proteína.
Gene: segmento de DNA (uma sequência de nucleotídeos no DNA) que codifica um produto funcional.
Gênero: primeiro nome da nomenclatura científica (binomial); táxon entre família e espécie.
Genética: ciência da hereditariedade e da função de genes.
Genética reversa: análise genética que inicia com um fragmento de DNA e prossegue com a determinação de sua função.
Genoma: uma cópia completa da informação genética de uma célula.
Genômica: estudo dos genes e de suas funções.
Genótipo: organização genética de um organismo.
Geração espontânea: a ideia de que a vida poderia surgir espontaneamente de material inerte.
Germicida: *veja* biocida.
Germinação: processo de iniciação do crescimento a partir de um esporo ou endosporo.
Glicocálice: polímero gelatinoso que circunda uma célula.
Glicólise: via principal para a oxidação da glicose a ácido pirúvico; também chamada de via de Embden-Meyerhof.
Globulina sérica imune: *veja* gamaglobulina.
Globulina: classe de proteínas globulares que inclui os anticorpos. *Veja também* imunoglobulinas.
Goma: massa tecidual com aspecto emborrachado característico de sífilis terciária.
Grânulo de enxofre: *veja* inclusão.
Grânulo metacromático: grânulo que armazena fosfato inorgânico e se cora de vermelho pós o uso de certos corantes azuis; característico de *Corynebacterium diphtheriae*; coletivamente conhecido como volutina.
Granulócito: leucócito que apresenta grânulos no citoplasma; inclui neutrófilos, basófilos e eosinófilos.
Granzimas: proteases que induzem a apoptose.
Grupo acetil:

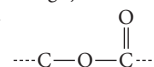
$$H_3C-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-$$

Grupo amina: $-NH_2$.
Grupo carboxílico:

$$-C\begin{matrix}\nearrow\!\!\!\!= O\\ \searrow OH\end{matrix}$$

Grupo fosfato: porção de uma molécula de ácido fosfórico ligada a alguma outra molécula, Ⓟ.

$$PO_4^{3-},\ {}^-O-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{\underset{\underset{\displaystyle O^-}{|}}{P}}}-O^-$$

Grupo funcional: arranjo de átomos em uma molécula orgânica, o qual é responsável pela maioria das propriedades químicas da molécula.
Grupo sulfidril – SH.
Halófilo facultativo: organismo capaz de crescer em meios contendo 1 a 2% de sal, embora este não seja um requisito para seu crescimento.
Halófilo obrigatório (estrito): organismo que requer altas pressões osmóticas, como aquelas de altas concentrações de NaCl.
Halófilo: organismo que requer uma alta concentração de sal para seu crescimento.
Halógeno: um dos seguintes elementos: fluorina, clorina, bromina, iodina ou astatina.
Hapteno: substância de baixo peso molecular que não induz a formação de anticorpos por si só, mas o faz quando combinada a uma molécula carreadora.
Helmintos: vermes parasíticos semelhantes a lombrigas e planárias.
Hemaglutinação viral: habilidade de determinados vírus de causar a formação de grumos de eritrócitos *in vitro*.
Hemaglutinação: agregação de eritrócitos.
Hemoflagelado: flagelado parasítico encontrado no sistema circulatório do hospedeiro.
Hemolisina: enzima que lisa eritrócitos.
Hermafrodita: que apresenta ambas as capacidades reprodutivas, masculina e feminina.
Heterocisto: célula grande presente em certas cianobactérias; sítio de fixação do nitrogênio.
Heterolático: descrição de um organismo que produz ácido lático e outros ácidos ou alcoóis como produtos finais da fermentação; p. ex., *Escherichia*.
Heterotrófico: organismo que requer uma fonte orgânica de carbono; também chamado de organotrófico.
Hialuronidase: enzima, secretada por certas bactérias, que hidrolisa ácido hialurônico e auxilia na propagação do micro-organismo para além do sítio inicial de infecção.
Hibridização de ácidos nucleicos: processo de combinação entre fitas simples de DNA complementares.
Hibridização de colônia: identificação de uma colônia contendo um determinado gene pelo uso de uma sonda de DNA que é complementar àquele gene.
Hibridoma: célula formada pela fusão de uma célula B produtora de anticorpos e uma célula cancerosa.
Hidrólise: reação de decomposição na qual substâncias químicas reagem com H^+ ou OH^- de uma molécula de água.
Hidróxido: OH^-, o ânion que forma uma base.
Hidroxila: ^-OH, covalentemente ligado a uma molécula que forma um álcool.
Hifa: filamento longo de células em fungos ou actinomicetos.
Hifa cenocítica: filamento fúngico que não se divide em unidades uninucleadas celulares, pois não contém septos.
Hifa septada: hifa formada por unidades nucleadas semelhantes a células.
Hipersensibilidade: reação imune alterada ou intensificada que leva a mudanças patológicas; também chamada de alergia.
Hipersensibilidade tardia: hipersensibilidade mediada por células.
Hipertermófilo: organismo cuja temperatura ótima de crescimento é de pelo menos 80°C; também chamado de termófilo extremo.
Histamina: substância liberada por tecidos ou células que causa vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e contração de músculos lisos.
Histona: proteína associada ao DNA dos cromossomos eucariotos.
Holoenzima: enzima que consiste em uma apoenzima e um cofator.
Homolático: descrição de um organismo que produz apenas ácido lático como produto final da fermentação; p. ex., *Streptococcus*.
Hospedeiro: organismo infectado por um patógeno. V*eja também* hospedeiro intermediário e hospedeiro definitivo.
Hospedeiro comprometido: hospedeiro cuja resistência às infecções é ineficiente.
Hospedeiro definitivo: organismo que hospeda a forma adulta, sexualmente madura, de um parasita.
Hospedeiro intermediário: organismo que abriga a fase larval ou assexuada de um helminto ou protozoário.
Identificação numérica: esquemas de identificação bacteriana que atribuem números aos valores dos testes.
Idiofase: período na curva de produção de uma população celular industrial no qual metabólitos são produzidos; período de crescimento estacionário que se segue a uma fase de crescimento rápido. *Veja também* trofofase.
IgA: classe de anticorpos encontrados em secreções.
IgD: classe de anticorpos encontrados em células B.
IgE: classe de anticorpos envolvidos na hipersensibilidade.
IgG: classe de anticorpos mais abundantes no soro.
IgM: primeira classe de anticorpos a surgir após a exposição a um antígeno.
Impressões digitais do DNA (*DNA fingerprinting*): análise do DNA pela separação eletroforética de seus fragmentos de restrição enzimática.
Imunidade: *veja* imunidade adaptativa; imunidade inata.
Imunidade adaptativa: capacidade, adquirida durante a vida de um indivíduo, de produzir anticorpos e células T específicas.
Imunidade ativa adquirida artificialmente: produção de anticorpos pelo organismo em resposta à vacinação.
Imunidade ativa adquirida naturalmente: produção de anticorpos em resposta a uma doença infecciosa.
Imunidade celular: resposta imune envolvendo células T que se ligam a antígenos apresentados por células apresentadoras de antígeno. Essas células T então se diferenciam em diversos tipos de células T efetoras.
Imunidade de grupo (imunidade coletiva): presença de imunidade na maioria da população.
Imunidade humoral: imunidade produzida por anticorpos dissolvidos em fluidos corporais, mediada por células B; também chamada de imunidade mediada por anticorpos.
Imunidade inata: defesas do hospedeiro que conferem proteção a qualquer tipo de patógeno; *veja também* imunidade adaptativa.
Imunidade passiva adquirida artificialmente: transferência de anticorpos humorais produzidos por um indivíduo para outro indivíduo suscetível pela injeção de antissoro.
Imunidade passiva adquirida naturalmente: transferência natural de anticorpos humorais através da placenta, por exemplo.

Imunização: *veja* vacinação.
Imunocomplexo: agregado antígeno-anticorpo circulante capaz de fixar o complemento.
Imunodeficiência: ausência de uma resposta imune adequada; pode ser congênita ou adquirida.
Imunodeficiência adquirida: incapacidade, adquirida durante a vida de um indivíduo, de produzir anticorpos ou células T específicas em decorrência da presença de drogas ou doenças.
Imunodeficiência congênita: inabilidade de um indivíduo de produzir anticorpos ou células T específicas em razão de seu genótipo.
Imunoeletroforese: identificação de proteínas por separação eletroforética seguida de teste sorológico.
Imunofluorescência: *veja* técnica do anticorpo fluorescente.
Imunógeno: *veja* antígeno.
Imunoglobulina (Ig): proteína (anticorpo) formada em resposta a um antígeno e que pode reagir com este antígeno; *veja também* globulina.
Imunoglobulina sérica anti-humana (anti-HISG): anticorpos que reagem especificamente com anticorpos humanos.
Imunologia: estudo das defesas do hospedeiro contra um patógeno.
Imunossupressão: inibição da resposta imune.
Imunoterapia: utilização do sistema imune para atacar células tumorais pela intensificação da resposta imune normal ou pela utilização de anticorpos específicos que carreiam toxinas; *veja também* imunotoxina.
Imunotoxina: agente imunoterapêutico que consiste em um elemento tóxico ligado a um anticorpo monoclonal.
Incidência: fração da população que contrai uma doença durante um período em particular.
Inclusão: material mantido dentro de uma célula frequentemente consistindo de depósitos de reserva.
Inclusão lipídica: *veja* inclusão.
Índice de refração: velocidade relativa com a qual a luz atravessa uma substância.
Indução: processo que ativa a transcrição de um gene.
Indutor: estímulo químico ou ambiental que leva à transcrição de genes específicos.
Infecção: crescimento de micro-organismos no corpo.
Infecção crônica: doença que se desenvolve lentamente e pode persistir ou recorrer por longos períodos.
Infecção focal: infecção sistêmica que inicia como uma infecção local em um determinado ponto.
Infecção inaparente: *veja* infecção subclínica.
Infecção latente: condição na qual o patógeno permanece no hospedeiro por longos períodos sem o surgimento de doença.
Infecção leveduriforme: doença causada pelo crescimento de certas leveduras em hospedeiros suscetíveis.
Infecção local: infecção em que os patógenos estão limitados a uma pequena área do corpo.
Infecção nosocomial: uma infecção que se desenvolve durante o curso da hospitalização de um paciente e que não estava presente no momento de sua admissão.
Infecção primária: doença aguda que causa a enfermidade inicial.
Infecção secundária: infecção causada por um micróbio oportunista depois que uma infecção primária enfraqueceu as defesas do hospedeiro.
Infecção sistêmica (generalizada): infecção espalhada por todo o corpo.
Infecção subclínica: infecção que não causa doença detectável; também chamada de infecção inaparente.
Infecção viral persistente: processo patogênico que ocorre gradualmente durante um longo período.
Inflamação: resposta do hospedeiro ao dano tecidual; caracterizada por rubor, dor, calor, inchaço e eventualmente perda de função.
Inibição alostérica: processo pelo qual a atividade de uma enzima é alterada em razão da ligação de um substrato ao sítio alostérico.
Inibição por contato: parada do movimento e crescimento de células animais resultante do contato entre células.
Inibição por produto final: *veja* inibição por retroalimentação.
Inibição por retroalimentação: inibição de uma enzima em uma determinada via metabólica pelo acúmulo do produto final da via; também conhecida como inibição por produto final.
Inibidor competitivo: substância química que compete com o substrato normal de uma enzima por seu sítio ativo; *veja também* inibidor não competitivo.
Inibidor não competitivo: substância química inibidora que não compete com o substrato pelo sítio ativo de uma enzima; *veja também* inibição alostérica e inibidor competitivo.
Inibidor não nucleosídeo da transcriptase reversa: droga que se liga e inibe a ação da enzima transcriptase reversa do HIV.
Inibidor nucleosídeo da transcriptase reversa: droga antirretroviral com base em um análogo de nucleosídeo.
Iniciador de RNA: pequena fita de RNA usada para iniciar a síntese da fita atrasada do DNA; também é usado para iniciar a reação em cadeia da polimerase.
Inóculo: meio de cultura no qual micro-organismos são implantados.
Insaturado: ácido graxo contendo uma ou mais ligações duplas.
Integrase: enzima produzida pelo HIV e que permite a integração do seu DNA no DNA da célula hospedeira.
Interferon (IFN): grupo de citocinas específicas. IFNs α e β são proteínas antivirais produzidas por certas células animais em resposta a uma infecção viral. IFN γ estimula a atividade de macrófagos.
Interleucina (IL): composto químico que causa proliferação de células T; *veja também* citocina.
Intoxicação: condição resultante da ingestão de uma toxina produzida por um micróbio.
Íntron: região de um gene eucariótico que não codifica uma proteína ou um mRNA.
Intubação: colocação de um tubo dentro do corpo; intubação traqueal provê acesso de ar aos pulmões.
Intumescimento: condição que surge quando o lodo flutua em vez de sedimentar em tratamentos secundários de esgotos.
Invasina: proteína de superfície, produzida por *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*, que causa o rearranjo de filamentos de actina proximais no citoesqueleto de uma célula do hospedeiro.
Iodóforo: complexo formado por iodo e um detergente.
Íon: átomo ou grupo de átomos positiva ou negativamente carregados.
Ionização: separação (dissociação) de uma molécula em íons.
Isômero L: arranjo de quatro diferentes átomos ou grupos ao redor de um átomo de carbono; *veja* D-isômero.
Isômero: uma ou duas moléculas com a mesma fórmula química, mas diferentes estruturas.
Isótopo: forma de um elemento químico na qual o número de nêutrons em seu núcleo é diferente das outras formas do mesmo elemento.
Isquemia: decréscimo localizado do fluxo sanguíneo.
Kelp (alga Kombu): alga marrom multicelular.
Koji: fermentação microbiana no arroz, normalmente por *Aspergillus oryzae*, usado na produção de amilase.
Lagoa de oxidação:* método de tratamento secundário de esgotos pela ação microbiana em pequenas lagoas de água rasa e parada.
Lâmina: estrutura plana, em forma de folha, presente em algas multicelulares.
Larva: fase sexualmente imatura de um helminto ou artrópode.
Lecitina: proteína celular que se liga a carboidratos.
Lentes objetivas: em um microscópio óptico composto, constituem as lentes mais próximas do espécime.
Lentes oculares: em um microscópio óptico composto, constituem as lentes mais próximas do observador; também chamadas de peça óptica.
Leucocidinas: substâncias produzidas por algumas bactérias que podem destruir neutrófilos e macrófagos.
Leucócito polimorfonuclear (PMN): *veja* neutrófilo.
Leucócito: célula branca do sangue.
Leucotrieno: substância produzida por mastócitos e basófilos que causa o aumento da permeabilidade de vasos sanguíneos e auxilia fagócitos a se ligarem a patógenos.
Levedura: fungo unicelular não filamentoso.
Levedura de fissão: em seguida à mitose, uma levedura que se divide igualmente para formar duas novas células.
Leveduras brotantes: leveduras que, após a mitose, se dividem de forma assimétrica produzindo uma pequena célula (broto) a partir da célula parental.
Ligação covalente: ligação química na qual os elétrons de um átomo são divididos com outro átomo.
Ligação de dissulfeto (ponte dissulfeto): ligação covalente que mantém unidos dois átomos de enxofre.
Ligação de hidrogênio: ligação entre dois átomos de hidrogênio covalentemente ligados a um oxigênio ou nitrogênio.
Ligação éster: ligação entre ácidos graxos e glicerol em fosfolipídeos de bactérias e eucariotos.

$$\cdots \mathrm{C} - \mathrm{O} - \overset{\overset{\displaystyle \mathrm{O}}{\|}}{\mathrm{C}} \cdots$$

* N. de T. No Brasil, as lagoas de oxidação são mais conhecidas como lagoas de estabilização.

Ligação éter: ligação entre ácidos graxos e glicerol em fosfolipídeos de arquibactéria.
Ligação iônica: ligação química formada quando átomos ganham ou perdem elétrons de seus níveis de energia mais externos.
Ligação peptídica: ligação que une o grupo amina de um aminoácido ao grupo carboxila de um segundo aminoácido com a perda de uma molécula de água.
Ligação química: força atrativa entre átomos que formam uma molécula.
Ligante: *veja* adesina.
Linfangite: inflamação de vasos linfáticos.
Linfócito: leucócito envolvido em respostas imunes específicas.
Linhagem celular contínua: células animais que podem ser mantidas *in vitro* por um número indefinido de gerações.
Linhagem celular diploide: células eucarióticas cultivadas *in vitro*.
Linhagem celular primária: tecido humano que cresce *in vitro* apenas por algumas gerações.
Liofilização: congelamento de uma substância seguido pela sublimação do gelo a vácuo; também chamada de secagem por congelamento a vácuo.
Lipase: enzima que quebra triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos.
Lipídeo: molécula orgânica insolúvel em água e que inclui triglicerídeos, fosfolipídeos e esteróis.
Lipídeo A: componente da parede externa de bactérias gram-negativas; endotoxina.
Lipopolissacarídeo (LPS): molécula que consiste em um lipídeo e um polissacarídeo, formando a membrana externa da parede celular de bactérias gram-negativas.
Líquen: relação mutualística entre um fungo e uma alga ou cianobactéria.
Lise osmótica: ruptura da membrana plasmática resultante do movimento de água para o interior da célula.
Lise: (1) destruição de uma célula pela ruptura de sua membrana citoplasmática. (2) Na doença, um período gradual de declínio.
Lisogenia: estágio no qual o DNA bacteriofágico é incorporado à célula hospedeira sem que ocorra lise.
Lisossomo: organela que contém enzimas digestivas.
Lisozima: enzima capaz de hidrolisar paredes celulares bacterianas.
Litotrófico: *veja* autotrófico.
Lodo: material sólido obtido do esgoto.
Lofotríquio: que possui dois ou mais flagelos em uma das extremidades da célula.
Luciferase: enzima que recebe elétrons de flavoproteínas e emite um fóton luminoso na bioluminescência.
Macrófago: célula fagocítica; monócito maduro; *veja* macrófago fixo e macrófago migratório.
Macrófago ativado: um macrófago com capacidade fagocítica e outras funções melhoradas após exposição a mediadores liberados por células T estimuladas por antígenos.
Macrófago fixo: um macrófago que se localiza em um determinado órgão ou tecido (p. ex., fígado, pulmões, baço ou linfonodos); também chamado de histiócito.
Macrófago migratório: macrófago que deixa o sangue e migra para tecidos infectados.
Macrolídeo: antibiótico que inibe a síntese proteica; por exemplo, eritromicina.
Macromolécula: molécula orgânica grande.
Mácula: lesão plana e avermelhada na pele.
Maculopapular: erupção com máculas e pápulas.
Magnetossomo: inclusão de óxido férrico, produzido por certas bactérias gram-negativas e que age como um imã.
Magnificação total: ampliação de um espécime microscópico, determinada pela multiplicação da magnificação da lente ocular pela magnificação da lente objetiva.
Maltagem: germinação de grãos de cevada resultando na produção de maltose e glicose.
Malte: grãos germinados de cevada contendo maltose, glicose e amilase.
Manual de Bergey: Manual de Bergey de Bacteriologia Sistemática (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*), referência taxonômica padrão para bactérias; também se refere ao Manual de Bergey de Bacteriologia Determinista (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*), referência de laboratório padrão para a identificação de bactérias.
Mapeamento genético: técnica que determina quais genes estão presentes no genoma de uma célula.
Maré vermelha: explosão populacional de dinoflagelados planctônicos.
Marginação: processo pelo qual fagócitos se aderem ao revestimento dos vasos sanguíneos.
Massa atômica: número total de prótons e nêutrons no núcleo de um átomo.
Mastócito: tipo de célula encontrada em todo o corpo e que contém histamina e outras substâncias que estimulam a vasodilatação.
Matriz: fluido mitocondrial.
Medula: corpo de um líquen consistindo de alga (ou cianobactéria) e fungo.
Meio complexo: meio de cultura cuja composição química exata não é conhecida.
Meio de cultura: material nutriente preparado para permitir o crescimento de micro-organismos em laboratório.
Meio de enriquecimento: meio de cultura usado para isolamento preliminar e que favorece o crescimento de um determinado micro-organismo.
Meio definido quimicamente: meio de cultura cuja composição química exata é conhecida.
Meio diferencial: meio de cultura sólido que facilita a distinção de colônias de um determinado organismo.
Meio redutor: meio de cultura contendo ingredientes que removem o oxigênio dissolvido no meio, permitindo o crescimento de anaeróbicos.
Meio seletivo: meio de cultura que objetiva a supressão do crescimento de micro-organismos indesejáveis e favorece o crescimento de micro-organismos desejáveis.
Meiose: processo de replicação de células eucarióticas que resulta em células contendo metade do número de cromossomos da célula original.
Membrana filtrante: material semelhante a uma malha e que possui poros pequenos o bastante para reter micro-organismos; um filtro de 0,45 μm retém a maioria das bactérias.
Membrana ondulante: flagelo altamente modificado de alguns protozoários.
Membrana plasmática (citoplasmática): membrana seletivamente permeável que circunda o citoplasma de uma célula; a camada mais externa de células animais, interna à parede celular de outros organismos.
Membranas mucosas: membranas que delimitam as aberturas corporais, inclusive o trato intestinal; também chamadas simplesmente de mucosa.
Meningite: inflamação das meninges, as três camadas que recobrem o cérebro e a medula espinal.
Merozoíto: trofozoíto de *Plasmodium* encontrado no interior de eritrócitos ou células hepáticas.
Mesófilo: organismo que cresce em temperaturas entre 10 e 50°C; micróbio que prefere temperaturas moderadas.
Mesossomo: dobramento irregular da membrana plasmática de uma célula procariótica essencial para a preparação para microscopia.
Metabolismo: soma de todas as reações químicas que ocorrem em uma célula viva.
Metabólito primário: produto de uma população celular industrial gerado durante período de rápido crescimento logarítmico; *veja também* metabólito secundário.
Metabólito secundário: produto de uma população celular industrial gerado depois que o micro-organismo já completou seu período de crescimento rápido e se encontra na fase estacionária do ciclo de crescimento; *veja também* metabólito primário.
Metacercária: estágio cístico da fascíola em seu hospedeiro intermediário final.
Metano: hidrocarbono CH_4, um gás inflamável formado pela decomposição microbiana de matéria orgânica; gás natural.
Metilação: adição de grupos metil ($–CH_3$) a uma molécula; a citosina metilada é protegida da digestão por enzimas de restrição.
Método de disco-difusão: teste de difusão em ágar para determinar a suscetibilidade microbiana a um agente quimioterápico; também chamdo de método de Kirby-Bauer.
Método de espalhamento em placa: método de contagem em placa no qual o inóculo é espalhado na superfície de um meio de cultura sólido.
Método de estriamento em placa: método de isolamento de uma cultura pelo espalhamento de um micro-organismo sobre a superfície de um meio de cultura sólido.
Método do número mais provável (NMP): determinação estatística do número de coliformes por 100 mL de água ou 100 g de alimento.
Método *pour plate*: método de inoculação em um meio nutritivo sólido pela mistura de bactérias com meio derretido, a qual é vertida em uma placa de Petri para solidificar.
Micélio: massa de longos filamentos de células que se ramificam e emaranham; tipicamente encontrado em mofos.
Micologia: estudo científico dos fungos.
Micorriza: fungo que cresce em simbiose com raízes de plantas.
Micose: infecção fúngica.
Micose cutânea: infecção fúngica da pele, dos pelos ou das unhas.
Micose sistêmica: infecção fúngica em tecidos profundos.
Micose subcutânea: infecção fúngica do tecido abaixo da pele.
Micose superficial: infecção fúngica localizada na superfície de células epidérmicas e em folículos pilosos.
Micotoxina: toxina produzida por um fungo.
Micro-organismo: organismo vivo muito pequeno para ser vivo a olho nu; inclui bactérias, fungos, protozoários e algas microscópicas; também inclui vírus.
Micro-ondas: radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 10^{-1} e 10^{-3} m.

Microaerófilo: micro-organismo que cresce melhor em ambientes contendo menos oxigênio molecular (O_2) do que normalmente encontrado no ar.
Microbiologia aquática: estudo de micro-organismos e suas atividades em águas naturais.
Microbiota normal: micro-organismo que coloniza um hospedeiro sem causar doenças; também chamada de flora normal.
Microbiota transiente: micro-organismos que estão presentes em um animal por um curto período, sem causar doença.
Micrômetro (μm): unidade de medida igual a 10^{-6} m.
Microscopia de força atômica: *veja* microscopia de varredura por sonda.
Microscopia de varredura por sonda: técnica de microscopia utilizada para se obter imagens de formas moleculares, caracterizar propriedades químicas e determinar variações de temperatura dentro de um espécime.
Microscopia de varredura por tunelamento (microscopia de tunelamento): *veja* microscopia de varredura por sonda.
Microscópio acústico de varredura (SAM): microscópio que usa ultrassons de alta frequência para penetrar superfícies.
Microscópio confocal: microscópio óptico que utiliza substâncias fluorescentes e *laser* para gerar imagens em duas ou três dimensões.
Microscópio de campo claro: microscópio que usa a luz visível para iluminação; espécimes são visualizados contra um campo branco.
Microscópio de campo escuro: microscópio que contém um artefato para dispersar a luz, de forma que o espécime aparece claro em um fundo escuro.
Microscópio de contraste de fase: microscópio óptico composto que permite o exame de estruturas intracelulares pelo uso de condensadores especiais.
Microscópio de contraste por interferência diferencial (CID): instrumento que proporciona a geração de imagem aumentada e tridimensional.
Microscópio de fluorescência: microscópio que utiliza uma fonte de luz ultravioleta para iluminar espécimes que irão fluorescer.
Microscópio de fluorescência por absorção de dois fótons: microscópio luminoso que utiliza corantes fluorescentes e luz de comprimento de onda longo.
Microscópio eletrônico: microscópio que usa elétrons em vez de luz para gerar uma imagem.
Microscópio eletrônico de transmissão (MET): microscópio eletrônico que apresenta alto poder de magnificação (10.000 a 100.000 ×) em secções finas de espécimes.
Microscópio eletrônico de varredura (MEV): microscópio eletrônico que gera imagens tridimensionais de espécimes ampliadas de 1.000 a 10.000 vezes.
Microscópio óptico composto (MOC): instrumento com dois grupos de lentes que usa a luz visível como fonte de iluminação.
Microtúbulo: tubo oco constituído pela proteína tubulina; a unidade estrutural de centríolos e flagelos eucarióticos.
Miracídio: larva ciliada e livre-natante de um verme que eclode de um ovo.
Mitocôndria: organela que contém as enzimas do ciclo de Krebs e a cadeia transportadora de elétrons.
Mitose: processo de replicação da célula eucariótica no qual os cromossomos são duplicados; normalmente seguida da divisão do citoplasma da célula.
Mitossomo: organela eucariótica derivada de mitocôndrias degeneradas; encontrado em *Giardia* e *Trichomonas*.
MMWR (Morbidity and Mortality Weekly Report – Relatório Semanal de Morbidade e Mortalidade): publicação do Centro de Prevenção e Controle de Doenças norte-americano (CDC) contendo dados relativos a doenças notificáveis e tópicos de especial interesse.
Modelo do mosaico fluido: forma de se descrever o arranjo dinâmico de fosfolípideos e proteínas que compõem a membrana plasmática.
Mol: quantidade de uma substância química que seja igual ao peso atômico de todos os átomos em uma molécula desta substância.
Molécula: combinação de átomos que formam um composto químico específico.
Molécula polar: molécula que apresenta distribuição de carga desigual.
Monócito: leucócito precursor do macrófago.
Monoécio: que apresenta ambas as capacidades reprodutivas, masculina e feminina.
Monômero: molécula pequena que se combina coletivamente para formar polímeros.
Monossacarídeo: açúcar simples que consiste em 3 a 7 átomos de carbono.
Monotríquio: que possui apenas um flagelo.
Morbidade: (1) a incidência de uma doença específica; (2) a condição de estar doente.
Mordante: substância adicionada a uma solução corante que a faz corar com mais intensidade.
Mortalidade: número de mortes causadas por uma doença notificável específica.
Motilidade: habilidade de um micro-organismo de se locomover por si próprio.
Mudança antigênica: grande variação gênica no vírus Influenza gerando alterações nos antígenos H e N.
Mutação: qualquer mudança na sequência de bases nitrogenadas do DNA.
Mutação de fase de leitura: mutação causada pela adição ou remoção de uma ou mais bases no DNA.
Mutação de ponto: *veja* substituição de base.
Mutação espontânea: mutação que ocorre na ausência de um agente mutágeno.
Mutação pontual: mutação que resulta na substituição de um aminoácido em uma proteína.
Mutação sem sentido: substituição de base no DNA que resulta em um códon sem sentido.
Mutagênese sítio-dirigida: técnicas utilizadas para modificar um gene em um local definido e produzir um polipeptídeo desejado.
Mutágeno: agente presente no ambiente que induz mutações.
Mutualismo: tipo de simbiose onde ambos os organismos ou populações se beneficiam.
NAD^+: coenzima que funciona na remoção e na transferência de íons hidrogênio (H^+) e elétrons de moléculas de substrato.
$NADP^+$: coenzima similar a NAD^+.
Nanobactéria: bactéria de tamanho bem menor que o geralmente aceito como limite diametral mínimo para bactérias (cerca de 200 nm).
Nanômetro (nm): unidade de medida igual a 10^{-9} m, 10^{-3} μm.
Necrose: morte tecidual.
Neurotoxina: exotoxina que interfere na condução normal do impulso nervoso.
Neutralização: reação antígeno-anticorpo específica que resulta na inativação de uma exotoxina bacteriana ou um vírus.
Neutrófilo: granulócito altamente fagocítico; também chamado de leucócito polimorfonuclear (PMN) ou simplesmente polimorfo.
Nêutron: partícula sem carga presente no núcleo de um átomo.
Nitrificação: oxidação no nitrogênio em amônia para produzir nitrato.
Nitrosamina: agente carcinogênico formado pela combinação de nitrito e aminoácidos.
Nível de Biossegurança (BSL): instruções de segurança para se trabalhar com micro-organismos em um laboratório; existem quatro níveis denominados de NB-1 até NB-4.
Nível de energia: energia potencial de um elétron em um átomo; *veja também* camada eletrônica.
Nódulo da raiz: crescimento semelhante a um tumor na raiz de certas plantas que abrigam bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio.
Nomenclatura binomial: sistemática com base em dois nomes (gênero e nome específico) para representar cada organismo; também chamada de nomenclatura científica.
Nomenclatura científica: *veja* nomenclatura binomial.
Núcleo: (1) parte do átomo que consiste em prótons e nêutrons; (2) parte da célula eucariótica que contém o material genético.
Nucleoide: região da célula bacteriana que contém o cromossomo.
Nucléolo: região no núcleo de uma célula eucariótica onde os RNAs ribossomais (rRNAs) são sintetizados.
Nucleosídeo: composto que consiste em uma base purínica ou pirimidínica e uma pentose.
Nucleotídeo: composto que consiste em uma base purínica ou pirimidínica, um açúcar de 5 carbonos e um fosfato.
Número atômico: número de prótons no núcleo de um átomo.
Número de renovação (número de *turnover*): número de moléculas de substrato afetadas por uma molécula enzimática por segundo.
Oligossacarídeo: um carboidrato que possui entre 2 e 20 monossacarídeos.
Oncogene: um gene que pode originar ou induzir uma transformação maligna.
Oocisto: zigoto cístico de um protozoário apicomplexo que se divide para formar o próximo estágio infeccioso.
Opa: proteína da membrana externa de uma bactéria; células que possuem Opa formam colônias opacas.
Operador: regiões do DNA adjacentes a genes estruturais e que controlam a sua transcrição.
Operon: sítios formados por operador, promotor e genes estruturais que os primeiros controlam.
Opsonização: intensificação da fagocitose pela ligação de determinadas proteínas séricas (opsoninas) à superfície de micro-organismos; também chamada de imunoaderência.
Ordem: classificação taxonômica entre classe e família.
Organela: estrutura envolvida por membrana localizada no interior de uma célula eucariótica.

Organismo indicador: micro-organismo, como um coliforme, cuja presença indica uma determinada condição como contaminação fecal na água ou nos alimentos.
Organotrófico: *veja* heterotrófico.
Osmose: movimento global de moléculas solventes, através de uma membrana seletivamente permeável, de uma área de maior concentração para uma área de menor concentração de soluto.
Oxidação: remoção de elétrons de uma molécula.
Oxigênico: que produz oxigênio, como na fotossíntese de plantas e cianobactérias.
Oxigênio singlete: molécula de oxigênio altamente reativa (O_2^-).
Ozônio: O_3.
PAMP (*pathogen-associated molecular patterns* – padrões moleculares associados ao patógeno): moléculas presentes em patógenos e não próprias ao organismo.
Pápula: pequena elevação sólida na pele.
Paralisia flácida: perda do movimento e do tônus muscular.
Parasita: organismo que obtém nutrientes a partir de um hospedeiro vivo.
Parasitismo: relação simbiótica na qual um organismo (parasita) explora o outro (hospedeiro) sem gerar benefício em retorno.
Parasitologia: estudo científico de protozoários e vermes parasitas.
Parede celular: camada externa da maioria das células bacterianas, fúngicas, de algas e plantas; nas bactérias é constituída de peptideoglicanos.
Pares de base: arranjo de bases nitrogenadas em um ácido nucleico por ligações de hidrogênio; no DNA, os pares de base são A-T e G-C; no RNA, os pares de base são A-U e G-C.
Pasteurização a temperaturas elevadas e curtos intervalos de tempo (*high-temperature short-time* – HTST): pasteurização a 72°C por 15 segundos.
Pasteurização: processo de aquecimento brando que visa eliminar determinados micro-organismos que degradam o objeto da pasteurização e os patógenos.
Patogênese: a maneira como uma doença se desenvolve.
Patogenicidade: habilidade de um micro-organismo de causar doença sobrepujando as defesas do organismo.
Patógeno: organismo que causa doença.
Patógeno oportunista: micro-organismo que ordinariamente não causa doença, mas pode se tornar patogênico em determinadas circunstâncias.
Patologia: estudo científico de doenças.
Película: (1) cobertura flexível de alguns protozoários; (2) espuma na superfície de meios líquidos.
Penicilinas: grupo de antibióticos produzidos pelo *Penicillium* (penicilina natural) ou pela adição de cadeias laterais ao anel β-lactâmico (penicilina semissintética).
Peptídeo antimicrobiano: antibiótico bactericida que possui amplo espectro de ação; *veja* bacteriocina.
Peptideoglicano: molécula estrutural da parede celular bacteriana; consiste em moléculas de N-acetilglicosamina, ácido N-acetilmurâmico, cadeias laterais tetrapeptídicas e cadeias laterais peptídicas.
Perforina: proteína liberada por linfócitos T citotóxicos que produz poros em uma membrana celular alvo.
Pericardite: inflamação do pericárdio, o saco membranoso que envolve o coração.
Período de convalescência: período de recuperação, quando o corpo retorno ao estado anterior à doença.
Período de eclipse: período durante a multiplicação viral quando vírions completos e infecciosos não estão presentes.
Período de incubação: intervalo de tempo entre a infecção propriamente dita e o surgimento de quaisquer sinais ou sintomas da doença.
Período prodrômico: tempo seguinte ao período de incubação, quando os primeiros sintomas da doença aparecem.
Periplasma: região da parede celular de bactérias gram-negativas entre a membrana externa e a membrana citoplasmática.
Peritríquio: que possui flagelos distribuídos por toda a superfície celular.
Permeabilidade seletiva: propriedade da membrana plasmática que permite a passagem de certos íons e moléculas através da membrana e restringe a passagem de outros.
Peroxidase: enzima que destrói o peróxido de hidrogênio ($H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow 2H_2O$).
Peroxigênio: classe de desinfetantes esterilizantes que agem por oxidação.
Peroxissomo: organela que oxida aminoácidos, ácidos graxos e álcool.
Peso molecular: soma do peso atômico de todos os átomos que compõem uma molécula.
pH: símbolo da concentração do íon hidrogênio (H^+); medida da acidez ou da alcalinidade relativas de uma solução.
Pilo: apêndice de uma célula bacteriana usado para conjugação e movimentação.
Pinocitose: engolfamento de fluido através da invaginação da membrana plasmática de eucariotos.
Piocianina: pigmento verde-azulado produzido por *Pseudomonas aeruginosa*.
Pirimidinas: classe de bases de ácidos nucleicos que inclui uracila, timina e citosina.
Placa: falha na monocamada de células bacterianas resultante de sua lise por fagos; *veja também* placa dentária.
Placa dentária: combinação de células bacterianas, dextran e detritos que se aderem ao dente.
Planária: animal pertencente ao filo Platyhelminthes.
Plâncton: organismos aquáticos flutuantes.
Plantae: reino composto por eucariotos multicelulares que possuem parede celular celulósica.
Plasma: (1) porção líquida do sangue na qual os elementos formados estão suspensos; (2) gases excitados utilizados para esterilização.
Plasmídeo: pequeno DNA circular que se replica independentemente do cromossomo.
Plasmídeo conjugativo: plasmídeo procariótico que codifica genes para a formação do pili sexual e a transferência do plasmídeo para outra célula.
Plasmídeo de dissimilação: plasmídeo contendo genes que codificam enzimas responsáveis pela ativação do catabolismo de determinados açúcares e carboidratos incomuns.
Plasmídeo T: plasmídeo de *Agrobacterium* que carreia genes indutores de tumores em plantas.
Plasmócito: célula formada pela diferenciação de células B ativadas; plasmócitos produzem anticorpos específicos.
Plasmódio (*Plasmodium*): (1) massa protoplasmática multinucleada, como nos fungos plasmodiais; (2) quando escrito como gênero, se refere ao agente causador da malária.
Plasmogamia: fusão do citoplasma de duas células; ocorre no estágio sexuado do ciclo vital fúngico.
Plasmólise: perda de água de uma célula em ambiente hipertônico.
Pleomórfico: que pode assumir muitas formas; característica de determinadas bactérias.
Pluripotente: célula que pode se diferenciar em muitos tipos diferentes de células teciduais.
Pneumonia: inflamação nos pulmões.
Polímero: molécula que consiste em uma sequência de moléculas similares ou monômeros.
Polipeptídeo: (1) cadeia de aminoácidos; (2) grupo de antibióticos.
Polissacarídeo: carboidrato que consiste em 8 ou mais monossacarídeos unidos através de síntese por desidratação.
Ponto de morte térmica (PMT): temperatura necessária para matar todas as bactérias em um meio líquido em 10 minutos.
Porinas: tipo de proteína, existente na membrana externa da parede celular de bactérias gram-negativas, que permite a passagem de pequenas moléculas.
Poro anal: sítio presente em certos protozoários para eliminação de dejetos.
Poro nuclear: abertura no envelope nuclear através da qual materiais podem entrar ou sair do núcleo.
Porta de entrada: via pela qual um patógeno ganha acesso ao corpo.
Porta de saída: via pela qual um patógeno deixa o corpo.
Postulados de Koch: critérios utilizados para determinar o agente etiológico de uma doença infecciosa.
Prebióticos: substâncias químicas que promovem o crescimento de bactérias benéficas para o organismo.
Pressão osmótica: força com a qual o solvente se move de uma área de maior concentração para uma área de menor concentração de soluto.
Prevalência: fração da população que apresenta uma determinada doença em um dado período.
Príon: agente infeccioso que consiste em uma proteína autorreplicativa, sem a presença detectável de ácidos nucleicos.
Probióticos: micróbios inoculados em um hospedeiro para ocupação de um nicho e prevenção contra o crescimento de patógenos.
Procarioto: célula cujo material genético não está circundado por um envelope nuclear.
Produção de lote: processo industrial no qual células são cultivadas por um período e em seguida o produto é coletado.
Produtor primário: organismo autótrofo, quimiotrófico ou fototrófico que converte dióxido de carbono em compostos orgânicos.
Prófago: DNA fágico inserido no DNA da célula hospedeira.
Profilático: qualquer coisa usada para prevenir uma doença.
Proglótide: segmento corporal de um verme cestoide (como a solitária) que contém ambos os órgãos sexuais, masculino e feminino.
Proliferação álgica: crescimento abundante de algas microscópicas.
Promotor: sítio de iniciação da transcrição de RNA, pela RNA-polimerase, em uma fita de DNA.

Próprio: tecido do hospedeiro.
Prostaglandina: substância semelhante a um hormônio liberada por células danificadas; intensifica a inflamação.
Prosteca: talo ou brotamento saliente em uma célula procariótica.
Protease: enzima que digere proteínas (enzima proteolítica).
Proteína: molécula grande que contém carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio (e enxofre); algumas proteínas apresentam estrutura helicoidal e outras são folhas planas.
Proteína antiviral (AVP): proteína produzida em resposta ao interferon e que bloqueia a multiplicação viral.
Proteína M: proteína da parede e das fibrilas estreptocócicas, resistente ao ácido e ao calor.
Proteína transportadora: proteína carreadora da membrana plasmática.
Proteína-cinase: enzima que ativa outra proteína pela adição de um P proveniente do ATP.
Proteínas de fase aguda: proteínas séricas cujas concentrações se alteram em pelo menos 25% durante o processo inflamatório.
Proteobactéria: bactéria gram-negativa, quimio-heterotrófica, que possui uma assinatura de rRNA típica.
Proteômica: ciência que determina todas as proteínas expressas em uma célula.
Protista: termo usado para eucariotos unicelulares ou multicelulares simples; normalmente protozoários e algas.
Próton: partícula positivamente carregada no núcleo de um átomo.
Protoplasto: célula de uma bactéria gram-positiva ou uma planta da qual foi removida a parede celular.
Protozoários: organismos unicelulares eucarióticos; normalmente quimio-heterotróficos.
Provírus: DNA viral que se encontra integrado dentro do DNA da célula hospedeira.
Pseudo-hifa: cadeia curta de células fúngicas que resulta da falta de separação das células-filhas após o brotamento.
Pseudópodo: extensão da célula eucariótica que auxilia a locomoção e a alimentação.
Psicrófilo: organismo que cresce melhor a cerca de 15oC e não cresce em temperaturas acima de 20ºC; micróbio que aprecia o frio.
Psicrotrófico: organismo capaz de crescer em temperaturas entre 0 e 30oC.
Purinas: classe de bases de ácidos nucleicos que inclui adenina e guanina.
Pus: acúmulo de fagócitos mortos, células bacterianas mortas e fluido.
Pústula: pequena elevação na pele preenchida por pus.
Queratina: proteína encontrada na epiderme, nos pelos e nas unhas.
Química: ciência que estuda a interação entre átomos e moléculas.
Quimio-heterotrófico: organismo que usa moléculas orgânicas como fonte de energia e carbono.
Quimioautotrófico: organismo que usa um elemento ou composto químico inorgânico como fonte de energia e CO_2 como fonte de carbono.
Quimiocina: citocina que induz, pela quimiotaxia, a atração de leucócitos para uma área infectada.
Quimiosmose: mecanismo que usa um gradiente de prótons através de uma membrana citoplasmática para gerar ATP.
Quimiotaxia: movimento que ocorre em resposta à presença de uma substância química.
Quimioterapia: tratamento de doenças pelo uso de substâncias químicas.
Quimiotrófico: organismo que usa reações de oxidação e redução como fonte primária de energia.
R: usado para representar grupos não funcionais de uma molécula; *veja também* fator de resistência.
Radiação ionizante: radiação de alta energia que apresenta comprimento de onda menor que 1 nm; causa ionização. Raios X e gama são exemplos.
Radiação não ionizante: radiação de comprimento de onda curto que não causa ionização; a radiação ultravioleta (UV) é um exemplo.
Radical hidroxil: uma forma tóxica do oxigênio (OH·) gerada no citoplasma por ação de radiações ionizantes e respiração aeróbica.
Radical livre: composto com um elétron não pareado. *Veja* superóxido.
Radical superóxido: ânion tóxico (O_2^-) com um elétron não pareado.
RE liso: retículo endoplasmático que não contém ribossomos.
Reação de Arthus: inflamação e necrose que ocorrem no sítio de inoculação de soro exógeno devido à formação de imunocomplexos.
Reação de condensação: reação química na qual uma molécula de água é liberada; também chamada de síntese por desidratação.
Reação de decomposição: reação química na qual ligações são quebradas com a produção de partes menores a partir de uma molécula grande.
Reação de oxirredução: reação acoplada na qual uma substância é oxidada enquanto a outra é reduzida; também chamada de reação redox.
Reação de precipitação: reações entre antígenos solúveis e anticorpos multivalentes com a formação de agregados visíveis.
Reação de síntese: reação química na qual dois ou mais átomos se combinam para formar uma molécula nova e maior.
Reação de troca: reação química com componentes de síntese e decomposição.
Reação dependente de luz: processo pelo qual a energia luminosa é usada para converter ADP e fosfato em ATP; *veja também* fotofosforilação.
Reação em cadeia da polimerase (PCR): técnica que utiliza a DNA-polimerase para fazer múltiplas cópias de um DNA-molde *in vitro*; *veja também* cDNA.
Reação endergônica: reação química que requer energia.
Reação exergônica: reação química que libera energia.
Reação independente de luz: processo pelo qual elétrons e energia de um ATP são usados para reduzir CO_2 a açúcar; *veja também* ciclo de Calvin-Benson.
Reação química: processo de geração e quebra de ligações químicas entre átomos.
Reação redox: *veja* reação de oxirredução.
Reação reversível: reação química na qual os produtos finais podem prontamente reverter às moléculas originais.
RecA: catalisa a ligação de fitas de DNA; facilita a recombinação do DNA.
Receptor: molécula de ligação a um patógeno em uma célula hospedeira.
Recombinação gênica: processo que consiste na ligação de pedaços de DNA de diferentes fontes.
Rédia: estágio larval de um trematodo que se reproduz assexuadamente para gerar cercárias.
Redução: adição de elétrons a uma molécula.
Reino: classificação taxonômica entre domínio e filo.
Rejeição hiperaguda: rejeição bastante rápida de um transplante tecidual; normalmente em caso de uso de tecidos não humanos.
Remoção clonal: eliminação de células B e T autorreativas.
Renina: enzima que forma coalhos como parte de qualquer produto oriundo da fermentação de laticínios; originalmente obtida do estômago de bezerros, porém agora produzida por bactérias e fungos.
Reparo por excisão de nucleotídeo: processo de reparo do DNA que envolve a excisão de nucleotídeos defectivos e a substituição por nucleotídeos funcionais.
Replicação em placa: método de inoculação de vários meios mínimos de cultura sólidos, a partir de uma placa original, para reproduzir o mesmo padrão de colônias em cada placa.
Replicação semiconservativa: processo de replicação do DNA no qual cada molécula de fita dupla contém uma fita original e uma fita nova.
Repressão: processo pelo qual uma proteína repressora pode parar a síntese de outra proteína.
Repressão catabólica: inibição do metabolismo de fontes alternativas de carbono pela glicose.
Repressor: proteína que se liga ao sítio operador e previne a transcrição.
Reservatório de infecção: fonte contínua de infecção.
Resistência: habilidade de evitar doenças pelas imunidades inata e adaptativa.
Resolução: habilidade de distinguir detalhes finos pelo uso de instrumentos de magnificação; também chamada de poder de resolução.
Respiração: série de reações de oxirredução que ocorrem em uma membrana com a geração de ATP; o aceptor final de elétrons normalmente é uma molécula inorgânica.
Respiração aeróbica: respiração na qual o aceptor final de elétrons na cadeia transportadora de elétrons é o oxigênio molecular (O_2).
Respiração anaeróbica: respiração na qual o aceptor final de elétrons na cadeia transportadora de elétrons é uma molécula inorgânica diferente do oxigênio molecular (O_2); por exemplo, um íon nitrato ou CO_2.
Respiração celular: *veja* respiração.
Resposta anamnésica: *veja* resposta de memória.
Resposta de memória: ampliação rápida do título de um anticorpo após exposição a um antígeno, depois da resposta primária a este antígeno; também chamada de resposta anamnésica ou secundária.
Resposta primária: produção de anticorpos em resposta ao primeiro contato com um antígeno; *veja também* resposta de memória.
Resposta secundária: *veja* resposta de memória.
Retículo endoplasmático (RE): rede membranosa de células eucarióticas que conecta a membrana plasmática à membrana nuclear.
Retículo endoplasmático rugoso (RER): retículo endoplasmático com ribossomos em sua superfície.
Retort (*abreviação de* ***retortable pouch*** **– embalagem flexível esterilizável):** mecanismo para esterilização de alimentos processados (enlatados) pelo uso de vapor sob

pressão; o aparelho para esse tipo de esterilização funciona pelo mesmo princípio de uma autoclave, sendo, entretanto, muito maior.
RFLP (*restriction fragment length polymorphism* – polimorfismo de tamanho do fragmento de restrição): fragmentos resultantes da digestão do DNA por enzimas de restrição.
Ribose: açúcar de cinco carbonos que faz parte de moléculas ribonucleotídicas e RNA.
Ribossomo: sítio de síntese proteica em uma célula, composto de RNA e proteína.
Ribozima: enzima que consiste em molécula de RNA e que age nas fitas dos RNAs nascentes removendo íntrons e unindo éxons remanescentes.
Risco relativo: comparação do risco de uma doença em dois grupos.
Rizina: hifa semelhante a uma raiz que ancora o fungo a uma superfície.
RNA mensageiro (mRNA): tipo de molécula de RNA que direciona a incorporação de aminoácidos em proteínas.
RNA ribossomal (rRNA): tipo de molécula de RNA que forma os ribossomos.
RNA transportador (tRNA): tipo de molécula de RNA que carreia aminoácidos até os sítios ribossomais onde eles serão incorporados em proteínas.
RNAi: RNA de interferência; silenciamento da expressão de genes ao nível da transcrição pelo uso de pequenos RNAs de interferência que formam RNAs de fita dupla.
S (unidade Svedberg): denota a taxa de sedimentação relativa durante centrifugações ultrarrápidas.
Sal: substância que se dissolve na água formando cátions e ânions, os quais não são H^+ ou OH^-.
Sanitarização: remoção de micróbios de utensílios usados para alimentação e de áreas de preparação de alimentos.
Saprófita: organismo que obtém nutrientes a partir de matéria orgânica morta.
Sarcina: (1) grupo de oito bactérias que permanece dentro de um invólucro após sua divisão; (2) quando escrito como gênero, se refere a cocos anaeróbicos gram-positivos.
Saturação: (1) condição na qual o sítio ativo de uma enzima está ocupado pelo substrato ou produto durante todo o tempo; (2) quando relativo a ácidos graxos, significa ausência de ligações duplas.
Saxitoxina: toxina produzida por alguns dinoflagelados.
Seleção artificial: escolha de um organismo a partir de uma população para crescimento em busca de características desejáveis.
Seleção clonal: desenvolvimento de células B e T contra um antígeno específico.
Seleção natural: processo pelo qual um organismo que contém determinadas características hereditárias apresenta maior probabilidade de sobreviver e se reproduzir do que organismos contendo outras características.
Seleção negativa (indireta): processo de identificação de mutações pela seleção de células que não crescem após a utilização da metodologia de replicação em placa.
Seleção positiva (direta): procedimento de seleção de mutantes por seu crescimento.
Sensibilidade: percentual de amostras positivas corretamente diagnosticadas por determinado teste.
Sensor de *quorum* (*quorum sensing*): habilidade das bactérias de se comunicar e coordenar comportamentos através de moléculas sinalizadoras.
Separador celular ativado por fluorescência (*fluorescence-activated cell sorter* – FACS): modificação do citômetro de fluxo que permite a contagem e a triagem de células marcadas com anticorpos fluorescentes.
Sepse por gram-negativa: choque séptico causado por endotoxinas de bactérias gram-negativas.
Sepse por gram-positiva: choque séptico causado por bactérias gram-positivas.
Sepse: presença de toxina ou organismo patogênico no sangue e nos tecidos.
Septicemia: proliferação de patógenos no sangue, acompanhada de febre; eventualmente pode causar danos a órgãos.
Septo: separações semelhantes a paredes em hifas fúngicas.
Sequência de inserção (SI): tipo mais simples de transposon.
Sequenciamento de DNA: processo pelo qual a sequência nucleotídica do DNA é determinada.
Sequenciamento do RNA ribossomal (rRNA): determinação da ordem das bases nucleotídicas em um rRNA.
Sequenciamento por fragmentação randômica (*random shotgun sequencing*): técnica para determinação da sequência nucleotídica do genoma de um organismo.
Sideróforo: proteína bacteriana que se liga ao ferro.
Silenciamento gênico: mecanismo que inibe a expressão gênica. *Veja* RNAi.
Simbiose: convivência entre dois organismos ou populações diferentes.
Sinal: mudança observável e mensurável devida a uma doença.
Sincício: célula gigante multinucleada que resulta de determinadas infecções virais.
Síndrome: grupo de sinais ou sintomas específicos que acompanham uma doença.
Sinergismo: princípio pelo qual a eficiência de duas drogas utilizadas simultaneamente é maior que durante o uso individual de qualquer uma delas.
Síntese por desidratação: *veja* reação de condensação.
Sintoma: mudança em uma função corporal sentida por um paciente como resultado de uma doença.
siRNA (pequeno RNA interferente): intermediário do processo de RNAi no qual um longo RNA de fita dupla é clivado em pequenos (21 nucleotídeos) RNAs de fita dupla.
Sistema ABO de grupo sanguíneo: classificação dos glóbulos vermelhos com base na presença ou ausência dos carboidratos antigênicos A e B.
Sistema de lodo ativado: processo utilizado no tratamento secundário de esgotos no qual lotes de esgoto são mantidos em tanques altamente aerados; para garantir a presença de micróbios eficientes na degradação do esgoto, cada lote é inoculado com porções de lodo de um lote previamente tratado.
Sistema fagocítico mononuclear: sistema de macrófagos fixos localizados no baço, no fígado, nos linfonodos e na medula óssea vermelha.
Sistema nervoso central (SNC): o cérebro e a medula espinal; *veja também* sistema nervoso periférico.
Sistema nervoso periférico (SNP): nervos que conectam as regiões distais do corpo ao sistema nervoso central.
Sistemática: ciência que organiza grupos de organismos dentro de uma hierarquia.
Sítio (tecido) privilegiado: área (ou tecido) do corpo onde não é gerada uma resposta imune.
Sítio alostérico: sítio de uma enzima no qual um inibidor não competitivo se liga.
Sítio ativo: região de uma enzima que interage com o substrato.
Sítios de ligação a antígeno: sítio de um anticorpo que se liga a um determinante antigênico.
Solitária: platelminto pertencente à classe Cestoda.
Solução hipertônica: solução que contém uma concentração maior de solutos do que uma solução isotônica.
Solução hipotônica: solução que contém uma concentração menor de solutos do que uma solução isotônica.
Solução isotônica: solução na qual, após a imersão de uma célula, a pressão osmótica é idêntica através das membranas celulares.
Soluto: substância dissolvida em outra substância.
Solvente: meio que dissolve outra substância.
Sonda de DNA: fita curta e marcada de DNA ou RNA utilizada para localizar uma fita complementar em uma amostra de DNA.
Soro: líquido remanescente após a coagulação do plasma sanguíneo; contém anticorpos (imunoglobulinas).
Soro: parte líquida do leite que se separa da coalhada.
Soroconversão: mudança na resposta de um indivíduo a um antígeno em um teste sorológico.
Sorologia: ramo da imunologia que estuda o soro sanguíneo e as reações antígeno-anticorpo *in vitro*.
Sorotipo: *veja* sorovar.
Sorovar: variação dentro de uma espécie; também chamado de sorotipo.
***Southern blotting*:** técnica que usa sondas de DNA para detectar a presença de um DNA específico dentre fragmentos de restrição separados por eletroforese.
Substância polimérica extracelular (SPE): glicocálice que permite às bactérias se aderirem a várias superfícies.
Substituição de base: substituição de uma única base no DNA por outra base gerando uma mutação; também chamada de mutação de ponto.
Substrato: qualquer composto com o qual uma enzima reage.
Superantígeno: antígeno que ativa muitas células T diferentes, induzindo uma resposta imune intensa.
Superinfecção: crescimento de um patógeno que desenvolveu resistência a uma droga antimicrobiana em uso; crescimento de um patógeno oportunista.
Superóxido-dismutase (SOD): enzima que destrói o superóxido ($O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)
Suscetibilidade: falta de resistência a uma doença.
Talo: estrutura de suporte de algas multicelulares e basidiomicetos semelhante a um caule.
Talo: estrutura ou corpo vegetativo inteiro de um fungo, líquen ou alga.
Tampão: substância que tende a estabilizar o pH de uma solução.
Taquizoíto: forma de trofozoíto de um protozoário que apresenta crescimento rápido.
Taxa: subdivisões utilizadas para classificar organismos; p. ex., domínio, reino e filo.
Taxa de morbidade: número de pessoas afetadas por uma doença em um dado período em relação à população total.
Taxa de mortalidade: número de mortes resultantes de uma doença em um dado período em relação à população total.
Taxa de mutação: probabilidade de que um gene possa sofrer mutação cada vez que a célula se divide.

Taxia: movimento em resposta a um estímulo ambiental.
TCR (receptor de células T): molécula de células T que reconhece antígenos.
Técnica do anticorpo fluorescente (FA): ferramenta de diagnóstico que utiliza anticorpos marcados com fluorocromos vistos através de um microscópio de fluorescência; também chamada de imunofluorescência.
Técnicas assépticas: técnicas laboratoriais usadas para minimizar contaminações.
Tecnologia do DNA recombinante (rDNA): produção e manipulação de material genético *in vitro*; também chamada de engenharia genética.
Teleomorfo: estágio sexuado no ciclo vital de um fungo; também se refere a um fungo que produz esporos assexuados e sexuados.
Telômero: regiões não codificadoras do DNA localizadas nas extremidades dos cromossomos eucarióticos.
Temperatura máxima de crescimento: a mais alta temperatura na qual uma espécie pode crescer.
Temperatura mínima de crescimento: a mais baixa temperatura na qual uma espécie pode crescer.
Temperatura ótima de crescimento: temperatura na qual uma espécie atinge seu melhor nível de crescimento.
Tempestade de citocinas: produção exagerada de citocinas; pode causar dano ao corpo humano.
Tempo de geração: tempo necessário para que uma célula ou população dobre seu número.
Tempo de morte térmica (TMT): período necessário para matar todas as bactérias em um meio líquido em uma determinada temperatura.
Tempo de redução decimal (TRD): tempo (em minutos) necessário para matar 90% de uma população bacteriana em uma determinada temperatura; também chamado de valor D.
Teoria celular: todos os organismos vivos são compostos por células e se originam de células preexistentes.
Teoria da colisão: princípio pelo qual reações químicas ocorrem pelo ganho de energia gerado pela colisão de partículas.
Teoria do germe da doença: princípio de que micro-organismos causam doenças.
Teoria endossimbionte: modelo de evolução dos eucariotos sugerindo que organelas citoplasmáticas se originaram de células procarióticas vivendo dentro de um hospedeiro procarioto.
Terapia antirretroviral altamente ativa (highly active antiretroviral therapy – HAART): combinação de drogas usadas para o tratamento da infecção por HIV.
Terapia genética: tratamento de uma doença pela substituição de genes anormais.
Terminador: sítio na fita de DNA que determina onde a transcrição termina.
Termodúrico: resistente ao calor.
Termófilo: organismo cuja temperatura ótima de crescimento está entre 50 e 60°C; micróbio que aprecia o calor.
Termófilo extremo: veja hipertermófilo.
Teste da diluição de uso: método para determinação da eficiência de um desinfetante utilizando diluições seriadas.
Teste da reagina de plasma rápido (RPR): teste sorológico para sífilis.
Teste da tuberculina dérmica (teste tuberculínico): teste dérmico usado para detectar a presença de anticorpos contra *Mycobacterium tuberculosis*.
Teste de aglutinação em lâmina: método de identificação de um antígeno combinando-o com um anticorpo específico em uma lâmina.
Teste de aglutinação indireta (passiva): teste de aglutinação que utiliza um antígeno solúvel ligado a látex ou outras partículas pequenas.
Teste de Ames: procedimento que utiliza bactérias para a identificação de agentes potencialmente carcinogênicos.
Teste de imunodifusão: teste que consiste em reações de precipitação ocorrendo em meio contendo gel de ágar.
Teste de inibição da hemaglutinação viral: teste de neutralização no qual anticorpos contra um vírus em particular impedem que ele induza a formação de grumos de eritrócitos *in vitro*.
Teste de Kirby-Bauer: *veja* método de disco-difusão.
Teste direto de aglutinação: uso de anticorpos conhecidos para identificar um antígeno desconhecido ligado a uma célula.
Teste do anel de precipitina: teste de precipitação realizado em um tubo capilar.
Teste E: teste de difusão em ágar para determinar sensibilidade a um antibiótico usando uma tira plástica impregnada com concentrações variadas da droga.
Teste FA direto: teste que utiliza um anticorpo conjugado a um elemento fluorescente para identificar a presença de um antígeno.
Teste FA indireto: teste com base em anticorpo fluorescente para detectar a presença de anticorpos específicos.
Teste fermentativo: método utilizado para determinar se uma bactéria ou um fungo é capaz de fermentar um carboidrato específico; normalmente feito em caldo de peptona contendo o carboidrato, um indicador de pH e um tubo invertido para prender o gás formado.
Teste FTA-ABS (teste de absorção de anticorpo treponêmico fluorescente): teste indireto com base em anticorpo fluorescente para detecção de sífilis.
Teste lepromínico: teste na pele que determina a presença de anticorpos contra *Mycobacterium leprae*, agente causador da lepra.
Teste sorológico: técnicas de identificação de um micro-organismo com base em sua reação a anticorpos.
Teste VDRL (Laboratório de Pesquisa em Doenças Venéreas): teste de triagem rápido para detectar a presença de anticorpos contra *Treponema pallidum*.
Testes de diluição: método para determinação da concentração inibitória mínima pela diluição seriada de uma droga antimicrobiana.
Tétrade: grupo de quatro cocos.
Tilacoide: membrana contendo clorofila em um cloroplasto; um tilacoide bacteriano também é conhecido como cromatóforo.
Timo: órgão de mamíferos responsável pela maturação do sistema imune.
Tínea: infecção fúngica na pele, nas unhas ou nos pelos.
Tintura: solução em álcool aquoso.
Título de anticorpos: quantidade de anticorpos no soro.
Título: estimativa da quantidade de anticorpos ou vírus em uma solução; determinado por diluição seriada e expresso como a recíproca da diluição.
TLRs (receptores do tipo toll): proteínas de localização transmembrana em células imunes que reconhecem patógenos e ativam respostas imunológicas contra estes patógenos.
Topoisomerase: enzima que relaxa o DNA superenrolado adiante da forquilha de replicação; separa círculos de DNA ao final da replicação.
Toxemia: presença de toxinas no sangue.
Toxicidade seletiva: propriedades de alguns agentes antimicrobianos de serem tóxicos para um micro-organismo e atóxicos para o hospedeiro.
Toxigenicidade: capacidade de um micro-organismo de produzir toxinas.
Toxina A-B: exotoxina bacteriana constituída por dois polipeptídeos.
Toxina do esporão do centeio (Ergot):* toxina produzida em esclerótios pelo fungo *Claviceps purpurea* e que causa o ergotismo.
Toxina shiga: exotoxina produzida por *Shigella dysenteriae* e *E. coli* entero-hemorrágica.
Toxina: qualquer substância venenosa produzida por um micro-organismo.
Toxoide: toxina inativada.
Tradução: uso de mRNA como molde para a síntese de proteínas.
Trans: átomos de hidrogênio em lados opostos de uma ligação dupla em ácidos graxos; *veja* cis.
Transaminação: transferência de um grupo amina de um aminoácido para outro ácido orgânico.
Transcrição: processo de síntese de RNA a partir de um molde de DNA.
Transcriptase reversa: DNA-polimerase RNA-dependente; enzima que sintetiza um DNA complementar a partir de um molde de RNA.
Transdução: transferência de DNA de uma célula a outra através de um bacteriófago; *veja também* transdução generalizada e transdução especializada.
Transdução especializada: processo de transferência de um pedaço de DNA adjacente a um profago para outra célula.
Transdução generalizada: transferência de fragmentos de cromossomos bacterianos de uma célula para outra através de um bacteriófago.
Transferência horizontal de genes: transferência de genes entre dois organismos na mesma geração. *Veja também* transferência vertical de genes.
Transferência vertical de genes: transferência de genes de um organismo ou célula para sua progênie.
Transferrina: proteína humana que se liga ao ferro, reduzindo sua disponibilidade a um patógeno.
Transformação: (1) processo no qual genes são transferidos de uma bactéria a outra na forma de DNAs “nus” em solução; (2) mudança de uma célula normal para uma célula cancerosa.
Translocação de grupo: típica de procariotos; constitui transporte ativo no qual a substância é quimicamente modificada durante o transporte através da membrana citoplasmática.
Transmissão biológica: transmissão de um patógeno de um hospedeiro para outro quando o patógeno se reproduz em um vetor.
Transmissão mecânica: processo pelo qual artrópodes transmitem uma infecção pelo transporte de patógenos em seus pés ou outras partes do corpo.

* N. de T. Embora o termo toxina do esporão do centeio exista, o termo internacional Ergot é frequentemente utilizado sem tradução pela literatura técnico-científica na língua portuguesa.

Transmissão por contato: disseminação de uma doença por contato direto ou indireto, ou por gotículas.
Transmissão por contato direto: modo de transmissão de uma infecção de um hospedeiro para outro por algum tipo de associação próxima entre os hospedeiros.
Transmissão por contato indireto: propagação de patógenos por fômites (objetos inanimados).
Transmissão por gotículas: transmissão de uma infecção pelo contato com pequenas gotículas de líquido carreando micro-organismos.
Transmissão veicular: transmissão de um patógeno a partir de um reservatório inanimado.
Transplante alogênico: transplante de tecido que não é oriundo de um doador geneticamente idêntico (isto é, não próprio ou de um gêmeo idêntico).
Transplante autólogo: transplante de tecido oriundo do próprio indivíduo.
Transplante isogênico: transplante de tecido oriundo de um doador geneticamente idêntico (isto é, de um gêmeo idêntico).
Transporte ativo: movimento global de uma substância, através de uma membrana, contra um gradiente de concentração; requer gasto de energia pela célula.
Transposon: pequeno fragmento de DNA que pode se mover de uma molécula de DNA para outra.
Tratamento 12D: processo de esterilização que resulta em um decréscimo no número de endosporos de *Clostridium botulinum* da ordem de 12 ciclos logarítmicos.
Tratamento por temperatura ultra-alta (UHT): método de esterilização de alimentos a altas temperaturas (140-150°C) por períodos bastante curtos, de modo que possam ser estocados a temperatura ambiente.
Tratamento primário de esgoto: remoção de resíduos sólidos do esgoto, mantido em tanques ou lagos, pela sedimentação dos resíduos.
Tratamento secundário de esgotos: degradação biológica da matéria orgânica de esgotos em seguida ao tratamento primário.
Tratamento terciário de esgoto: método de tratamento de esgotos que se segue ao tratamento secundário convencional; poluentes não biodegradáveis e nutrientes minerais são removidos, normalmente por métodos físicos ou químicos.
Tratamentos equivalentes: diferentes métodos que apresentam o mesmo efeito em relação ao controle do crescimento microbiano.
Trifosfato de adenosina (ATP): importante fonte de energia intracelular.
Triglicerídeo: lipídeo simples que consiste em glicerol e três ácidos graxos.
Trofofase: período na curva de produção de uma população celular industrial no qual metabólitos primários são produzidos; período de crescimento rápido, logarítmico. *Veja também* idiofase.
Trofozoíto: forma vegetativa de um protozoário.
Turbidez: opacidade de uma suspensão.
Ubiquinona: carreador não proteico, de baixo peso molecular, de uma cadeia transportadora de elétrons; também chamada de coenzima Q.
ufc (unidade formadora de colônias): colônias bacterianas visíveis em meio sólido.
ufp (unidades formadoras de placa): placas virais visíveis e contáveis.
Vacina: preparação contendo micro-organismos mortos, inativados ou atenuados, ou toxoides, para induzir artificialmente imunidade ativa adquirida.
Vacina acelular: vacina constituída por partes antigênicas de células.
Vacina BCG: amostra viva e atenuada de *Mycobacterium bovis* utilizada para gerar imunidade contra a tuberculose.
Vacina conjugada: vacina constituída pelo antígeno desejado e por outras proteínas.
Vacina de DNA: vacina constituída de DNA, normalmente na forma de um plasmídeo.
Vacina de subunidade: vacina composta por um fragmento antigênico.
Vacina DTaP: vacina combinada, contendo toxoides da difteria e do tétano e fragmentos celulares de *Bordetella pertussis,* para geração de imunidade ativa.
Vacina recombinante: vacina produzida por técnicas envolvendo DNA recombinante.
Vacina viva atenuada: vacina contendo micro-organismos vivos atenuados (enfraquecidos).
Vacinação: processo de geração de imunidade pela administração de uma vacina; também chamada de imunização.
Vacúolo: inclusão intracelular de células eucarióticas circundada por uma membrana plasmática; em células procarióticas, circundada por uma membrana proteica.
Vacúolo de gás: inclusão procariótica para compensação da flutuabilidade.
Valência: capacidade de um átomo ou molécula de se combinar.
Valor D: *veja* tempo de redução decimal.
Vancomicina: antibiótico que inibe a síntese de parede celular.
Variação antigênica: mudanças nos antígenos de superfície que ocorrem em uma população microbiana.
Variolação: método antigo de vacinação utilizando material infectado oriundo de um paciente.
Vasodilatação: dilatação ou alargamento de vasos sanguíneos.
Vegetativo: se refere a células envolvidas na obtenção de alimentos em vez de reprodução.
Vermes redondos: animais pertencentes ao filo Nematoda.
Vesícula: (1) pequena elevação na pele preenchida por soro; (2) corpúsculos ovais e lisos formados nas raízes de plantas por micorrizas.
Vesícula de armazenamento: organelas que se formam a partir do complexo de Golgi; contém proteínas produzidas no RE e processadas no complexo de Golgi.
Vesícula de transferência: vesículas membranosas que movem proteínas do complexo de Golgi para áreas específicas da célula.
Vesícula de transporte: vesículas membranosas que movem proteínas do RE rugoso para o complexo de Golgi.
Vesícula secretora: vesícula envolvida por membrana produzida pelo RE; transporta material sintetizado para o citoplasma.
Vetor de transferência: plasmídeo que pode existir em várias espécies diferentes; usado em engenharia genética.
Vetor: (1) plasmídeo ou vírus utilizado em engenharia genética para inserir genes em uma célula; (2) artrópode que carreia micro-organismos causadores de doença de um hospedeiro para outro.
Via anfibólica: uma via que é tanto anabólica quanto catabólica.
Via das pentoses-fosfato: via metabólica que pode ocorrer simultaneamente à glicólise para produzir pentoses e NADH sem a geração de ATP; também chamada de desvio da hexose-monofosfato.
Via de Embden-Meyerhof: *veja* glicólise.
Via de Entner-Doudoroff: via alternativa para a oxidação da glicose a ácido pirúvico.
Via metabólica: sequência de reações enzimaticamente catalisadas que ocorrem dentro de uma célula.
Via parenteral: via de entrada de patógenos no organismo por sua deposição direta em tecidos abaixo da pele e da membrana mucosa.
Vibrião: (1) bactéria curva ou em forma de vírgula; (2) quando escrito como gênero (*Vibrio*), se refere a um bastonete curvo, gram-negativo, móvel, anaeróbico facultativo.
Vigilância imunológica: resposta imune do organismo ao câncer.
Viremia: presença de vírus no sangue.
Vírion: partícula viral completa e totalmente desenvolvida.
Viroide: RNA infeccioso.
Virologia: estudo científico dos vírus.
Virulência: grau de patogenicidade de um micro-organismo.
Vírus: agente filtrável, submicroscópico, parasítico, que consiste em um ácido nucleico circundado por um invólucro proteico.
Vírus complexo: vírus de estrutura complicada, como o bacteriófago.
Vírus oncogênico: vírus capaz de induzir a formação de tumor; também chamado de oncovírus.
Volutina: fosfato inorgânico estocado em uma célula procariótica; *veja também* grânulo metacromático.
***Western blotting*:** técnica que usa anticorpos para detectar a presença de proteínas específicas separadas por eletroforese.
Xenobióticos: substâncias químicas sintéticas que não são imediatamente degradadas por micro-organismos.
Xenodiagnóstico: método de diagnóstico com base na exposição de um hospedeiro normal, livre de parasitas, a um parasita, seguido do exame e da localização destes parasitas no hospedeiro.
Xenotransplante: tecido transplantado de outra espécie.
Zigósporo: esporo sexuado fúngico, característico de zigomicetos.
Zigoto: célula diploide produzida pela fusão de dois gametas haploides.
Zona bêntica: sedimento encontrado no fundo de um corpo de água.
Zona de inibição: área onde há ausência de crescimento bacteriano ao redor de um agente antimicrobiano pelo método de disco-difusão.
Zona limnética: zona superficial, distante da margem, de um corpo interno (continental) de água.
Zona litorânea: região ao longo da margem do oceano ou de um grande lago onde há considerável vegetação e a luz penetra até o fundo.
Zona profunda: águas profundas, abaixo da zona limnética, em um corpo interno (continental) de água.
Zoonose: doença que ocorre principalmente em animais selvagens e domésticos, mas que pode ser transmitida aos seres humanos.
Zoósporo: esporo assexuado de algas; possui dois flagelos.

CRÉDITOS

Crédito das ilustrações

Todas as ilustrações são da *Precision Graphics* a não ser quando informada outra fonte.

2.1, 2.3, 2.9, 2.12, 2.14, 2.15: G. J. Tortora and S. R. Grabowski, *Principles of Anatomy and Physiology*, 8th ed. F2.1, 2.4, 2.6, 2.9, 2.12, 2.13, 2.14. © 1996 Biological Sciences Textbooks. Reproduzidas com permissão da Pearson Science. Ilustrações Jared Schneidman Design.

4.22, 4.24, 4.25, 4.26: Adaptadas de G. J. Tortora and S. R. Grabowski, *Principles of Anatomy and Physiology*, 9th ed. F3.1, 3.25, 3.20, 3.21. © 2000 Biological Sciences Textbooks. Reproduzidas com permissão da Wiley.

5.1: G. J. Tortora and S. R. Grabowski, *Principles of Anatomy and Physiology*, 8th ed. F25.1. © 1996 Biological Sciences Textbooks. Reproduzidas com permissão da Pearson Science. Ilustração, Page Two Associates.

8.7: P. Berg and M. Singer, *Dealing With Genes: The Language of Heredity* (Mill Valley, CA: University Science Books, 1992) F13.1.

9.16: De J. D. Watson et al., *Recombinant DNA*, 2nd ed. (New York: W. H. Freeman, 1992).

13.T2: De R. I. B. Francki et al., eds., "Classification and Nomenclature of Viruses, Fifth Report of the Intl. Comm. on Taxonomy of Viruses", *Archives of Virology: Supplementum 2* (Vienna: Springer-Verlag, 1991).

14.4: CDC.

16.5: G. J. Tortora and S. R. Grabowski, *Principles of Anatomy and Physiology*, 7th ed., F22.1, 22.10. © 1993 Biological Sciences Textbooks. Reproduzida com permissão da Pearson Science.

19.14, 19.15: P. D. Greenberg, "Immunopathogenesis of HIV Infection", *Hospital Practice* 27:109. Ilustrações, Ilil Arbel. Reproduzidas com permissão.

19.17: Adaptada dos dados da UNAIDS pela unidade de desenho de mapas do Banco Mundial. Reproduzida com permissão da *Confronting Aids: Priorities in a Global Epidemic;* e dados da University of California, San Francisco, pelo sítio da web *HIVInSite*, 2005.

20.21: T. D. Brock et al., *Biology of Microorganisms*, 7th ed. © Prentice-Hall, 1993, p. 410. Reproduzida com permissão.

21.13, 22.12: Adaptadas de P. R. Murphy et al., *Medical Microbiology*, 3rd ed. (Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1993). Reproduzidas com permissão.

23.14: A. C. Steere, "Current Understanding of Lyme Disease", *Hospital Practice* 28: 4, p. 37. Ilustração, Nancy Lou Makris Riccio. Reproduzida com permissão.

24.9: A. M. Dannenberg, Jr., "Pulmonary Tuberculosis", *Hospital Practice* 28:51. Ilustrações, Seward Hung and Laura Pardi Duprey. Reproduzida com permissão.

24.19: CDC.

25.8, 25.9: M. Schaechter et al., eds., *Mechanisms of Microbial Disease*, 2nd ed. (Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 1993) F18.1.

25.13: De "Helicobacter Pylori Infection", *Hospital Practice* 26:F1. Ilustração, Laura Pardi Duprey. Reproduzida com permissão.

Crédito das fotos

Capítulo 1. Abertura: SciMAT/Photo Researchers. **1.1 (a):** CNRI/SPL/Photo Researchers. **1.1 (b):** Biophoto Associates/Photo Researchers. **1.1 (c):** K. W. Jean/ Visuals Unlimited. **1.1 (d):** Stephen Durr. **1.1 (e):** NIBSC/Photo Researchers. **1.2 (a):** Pfizer. **1.2 (b):** Christine Case. **1.3:** Charles O'Rear/Bettmann/Corbis. **1.4 (1, 2):** Bettmann/Corbis. **1.4 (3):** Rockefeller Archive Center. **1.5:** Bettmann/Corbis. **1.6:** Michael M. Kliks/Donald Heyneman. **1.7:** SciMAT/Photo Researchers. **1.8:** Rodney M. Donlan and Janice Carr, CDC. **AM (superior, meio):** Sascha Drewlo. **AM (inferior):** Digital Vision/Alamy.

Capítulo 2. Abertura: C. Ginocchio, S. Olmstead, C. Wells, and J. E. Galan. Contact with epithelial cells induces the formation of surface appendages on *Salmonella typhimurium*. *Cell*. 1994 Feb 25; 76(4):717–24. Copyright © 1994 by Elsevier Science Ltd. Reproduzida com permissão. **AM:** Accent Alaska/Ken Graham Agency.

Capítulo 3. Abertura: Biophoto Associates/Photo Researchers. **3.1:** Leica Microsystems. **3.2 (1):** The Scanning Probe Microscopy Unit/University of Bristol, UK. **3.2 (2):** Eye of Science/Photo Researchers. **3.2 (3):** Scimat/Photo Researchers. **3.2 (4):** Mae Melvin, CDC. **3.2 (5):** Tom Murray/*BugGuide.net*. **3.4:** Espécimes preparados e fotografados por L. Brent Selinger, Department of Biological Sciences, University of Lethbridge, Alberta, Canada; Pearson Science. **3.5:** Mike Abbey/Visuals Unlimited. **3.6:** CDC. **3.7:** Dennis Kunkel/Phototake. **3.8:** A. Diaspro, P. Fronteb, M. Raimondoa, M. Fatoc, G. DeLeoc, F. Beltramec, F. Cannoned, G. Chiricod, and P. Ramoinob. Functional imaging of living paramecium by means of confocal and two-photon excitation fluorescence microscopy. *Proceedings of SPIE*. 2002; 4622. © 2002 SPIE. Do Diaspro Lab, *www.lambs.it*, Department of Physics, University of Genoa. **3.9:** M. S. Good, C. F. Wend, L. J. Bond, J. S. McLean, P. D. Panetta, S. Ahmed, S. L. Crawford, and D. S. Daly. An estimate of biofilm properties using an acoustic microscope. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*. 2006 Sept; 53(9):1637–48. Fig. 5B. © 2006 IEEE. **3.10 (a):** Photo take Electra/Phototake. **3.10 (b):** Karl Aufderheide/Visuals Unlimited. **3.11 (a):** M. Amrein et al. Scanning tunneling microscopy of recA-DNA complexes coated with a conducting film. *Science*. 1988 Apr 22; 240(4851):514–16. Reimpressa com permissão. ©1988 AAAS. **3.11 (b):** D. M. Czajkowsky et al. Vertical collapse of a cytolysin prepore moves its transmembrane beta-hairpins to the membrane. *EMB0*. 2004 Aug 18; 23(16):3206–15. Reimpressa com permissão de Macmillan Publishers. Imagem fornecida por Zhifeng Shao, University of Virginia. **3.12:** Jack Bostrack/Visuals Unlimited. **3.13:** E. C. S. Chan/Visuals Unlimited. **3.14 (a):** Jack M. Bostrack/Visuals Unlimited. **3.14 (b):** Joseph W. Duris and Silvia Rossbach, Western Michigan University. **3.14 (c):** Eric Graves/Photo Researchers. **AM (superior):** Sebastien Vilain. **AM (meio à esquerda):** Eshel Ben-Jacob, School of Physics and Astronomy, Tel Aviv University, Israel. **AM (meio à direita):** Heinrich Lünsdorf, Helmholtz Center for Infection Research, Alemanha. **AM (inferior):** Digital Vision/Alamy. **T3.2 (1, 2, 3):** Espécimes preparados e fotografados por L. Brent Selinger, Department of Biological Sciences, University of Lethbridge, Alberta, Canada; Pearson Science. **T3.2 (4):** Mike Abbey/Visuals Unlimited. **T3.2 (5):** CDC. **T3.2 (6):** Dennis Kunkel/ Phototake. **T3.2 (7):** M. S. Good, C. F. Wend, L. J. Bond, J. S. McLean, P. D. Panetta, S. Ahmed, S. L. Crawford, and D. S. Daly. An estimate of biofilm properties using an acoustic microscope. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*. 2006 Sept; 53(9):1637–48. Fig. 5B. © 2006 IEEE. **T3.2 (8):** Phototake Electra/Phototake. **T3.2 (9):** Karl Aufderheide/Visuals Unlimited. **T3.2 (10):** M. Amrein et al. Scanning tunneling microscopy of recA-DNA complexes coated with a conducting film. *Science*. 1988 Apr 22; 240(4851):514–16. Reimpressa com permissão. ©1988 AAAS. **T3.2 (11):** Do. Diaspro, P. Fronteb, M. Raimondoa, M. Fatoc, G. DeLeoc, F. Beltramec, F. Cannoned, G. Chiricod, and P. Ramoinob. Functional imaging of living paramecium by means of confocal and two-photon excitation fluorescence microscopy. *Proceedings of SPIE*. 2002; 4622. © 2002 SPIE. From the Diaspro Lab, *www.lambs.it*, Department of Physics, University of Genoa. **T3.2 (12):** D. M. Czajkowsky et al. Vertical collapse of a cytolysin prepore moves its transmembrane beta-hairpins to the membrane. *EMB0*. 2004 Aug 18; 23(16):3206–15. Reimpressa com permissão de Macmillan Publishers. Imagem fornecida por Zhifeng Shao, University of Virginia. **CA:** Biophoto Associates/Science Source/Photo Researchers.

Capítulo 4. Abertura: NIAID/RML. **4.1 (a superior):** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **4.1 (a inferior):** Oliver Meckes and Nicole Ottawa/Photo Researchers. **4.1 (b, c):** G. Shih and R. Kessel/Visuals Unlimited. **4.1 (d):** David Scharf/Peter Arnold. **4.2 (a, b):** Manfred Kage/Peter Arnold. **4.2 (c):** Dennis Kunkel/Phototake. **4.2 (d):** Microworks Color/Phototake. **4.3:** N. H. Mendelson and J. J. Thwaites, *ASM News* 1993; 59:25. Fig. 2. Reimpressa com permissão. **4.4 (a):** London School of Hygiene/Photo Researchers. **4.4 (b):** Stanley Flegler/Visuals Unlimited. **4.4 (c):** Charles Stratton/Visuals Unlimited. **4.5 (a):** Horst Volker and Heinz Schlesner, Institut fur Allgemeine Mikrobiologie, Kiel/Michael Thomm. **4.5 (b):** H. W. Jannasch, Woods Hole Oceanographic Institution. **4.6:** Ralph A. Slepecky/Visuals Unlimited. **4.7 (a):** Science Source/Photo Researchers. **4.7 (b):** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **4.7 (c):** Biomedical Imaging Unit, Southampton General Hospital/SPL/ Photo Researchers. **4.7 (d):** Ed Reschke/Peter Arnold. **4.9:** Lee D. Simon/Science Source/Photo Researchers. **4.10:** Custom Medical Stock Photo. **4.11:** Kwangshin Kim/Photo Researchers. **4.14:** T. J. Beveridge/Biological Photo Service. **4.15:** H. S. Pankratz and R. L. Uffen, Michigan State University/Biological Photo Service. **4.16:** Christine Case. **4.20:** D. Balkwill and D. Maratea/Visuals Unlimited. **4.21:** Visuals Unlimited. **4.22 (direita):** Biophoto Associates/Photo Researchers. **4.22 (direita):** D.W. Fawcett/Photo Researchers. **4.23:** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **4.24:** CNRI/SPL/Photo Researchers. **4.25:** R. Bolender and D. Fawcett/ Photo Researchers. **4.26:** M. Powell/Visuals Unlimited. **4.27:** Keith Porter/Photo Researchers. **4.28:** E. H. Newcomb and W. P. Wergin/Biological Photo Service. **AM (inferior):** Dean Soulia and Lynn Margulis/University of Massachusetts. **AM (Inferior):** Nigel Cattlin/FLPA. **T4.1:** Manfred Kage/Peter Arnold. **T4.2:** Experimento conduzido e fotografado por L. Brent Selinger, Department of Biological Sciences, University of Lethbridge, Alberta, Canada; Pearson Science.

Capítulo 5. Abertura: I. Rosenshine et al. A pathogenic bacterium triggers epithelial signals to form a functional bacterial receptor that mediates actin pseudopod formation. *The EMB0 Journal*. 1996 June 3; 15(11):2613–24. Capa. **5.4:** T.A. Steitz, Yale University. **5.22, 5.23, 5.24:** Christine Case. **AM:** Bryan Reinhart/Masterfile. **CF:** Christine Case.

Capítulo 6. Abertura: Scimat/Photo Researchers. **6.7:** Lester Lefkowitz/Corbis. **6.8:** Jim Gathany, CDC. **6.9:** Christine Case. **6.10:** Cortesia de © of Becton, Dickinson and Company. **6.11:** Christine Case. **6.12:** Lee D. Simon/Photo Researchers. **6.18 (a):** Pall/Visuals Unlimited. **6.18 (b):** K. Taiaro/Visuals Unlimited. **CF (b):** Christine Case.

Capítulo 7. Abertura: Dennis Kunkel/Phototake. **7.3, 7.6:** Christine Case. **7.8:** CDC. **CF:** Christine Case.

Capítulo 8. Abertura, 8.1: Gopal Murti/Photo Researchers. **8.6:** NIH Kakefuda/Science Source/Photo Researchers. **8.7:** M. Guthold, Wake Forest University, and C. Bustamante, University of California, Berkeley. **8.10:** Visuals Unlimited. **8.26 (a):** Charles C. Brinton, Jr., University of Pittsburgh. **8.26 (b):** Omikron/Photo Researchers. **8.29:** Gopal Murti/Phototake. **CF:** Linda Stannard, UCT/Photo Researchers.

Capítulo 9. Abertura: Secchi-Lecaque, Roussel-Uclaf/SPL/Photo Researchers. **9.5:** De D. Cheney and B. Metz, não publicado. **9.6:** Matt Meadows/Peter Arnold. **9.7:** Institute Pasteur/Phototake. **9.10:** Matt Meadows/Peter Arnold. **9.13:** Secchi-Lecaque, Roussel-Uclaf/SPL/Photo Researchers. **9.17:** CDC. **9.18:** R. S. Oremland et al. Structural and spectral features of selenium nanospheres produced by Se-respiring bacteria. *Applied Environmental Microbiology*. 2004 Jan; 70(1):52–60. Fig. 1A. © 2004, American Society for Microbiology. **9.19:** Holt Studios International Ltd./Alamy. **CA:** Mike Zeller, Office of Biotechnology, Iowa State University. **CF (b):** S. U. Parshionikar, S. Willian-True, G. S. Fout, D. E. Robbins, S. A. Seys, J. D. Cassady, and R. Harris. Waterborne outbreak of gastroenteritis associated with a norovirus. *Applied and Environmental Microbiology*. Sept 2003; 69(9):5263–68. Fig. 2. **CT:** Christine Case.

Capítulo 10. Abertura: L. L. Pifer, W. T. Hughes, M. J. Murphy Jr. Propagation of Pneumocystis carinii in vitro. *Pediatric Research*. 1977 Apr; 11(4):305–16. **10.3:** Jerome Pickett-Heaps/Photo Researchers. **10.4 (a):** Georgette Douwma/Nature Picture Library. **10.4 (b):** Christine Case. **10.4 (c):** S. M. Awramik, University of California/Biological Photo Service. **10.9, 10.10:** Christine Case. **10.11 (a):** Sinclair Stammers/Photo Researchers. **10.11 (b):** Colin Cuthbert/Photo Researchers. **10.12:** CDC. **10.13:** Chris Jones, University of Leeds. **10.14:** Pascal Goetgheluck/SPL/ Photo Researchers. **10.17 (a):** Volker Steger/SPL/Photo Researchers. **10.17 (d):** James Liao's Lab, UCLA DNA Microarray core Facility. **10.18:** V. A. Kempf, K. Trebesius, I. B. Autenrieth. Fluorescent in situ hybridization allows rapid identification of microorganisms in blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000 Feb; 38(2):830–38. Fig 1. © 2000 American Society for Microbiology. **AM (superior):** Darryl W Bush, Marine World/Africa USA, Vallejo, CA. **AM (inferior):** Terry Whittaker/FLPA. **T10.1 (1):** Oliver Meckes/Nicole Ottawa/Photo Researchers. **T10.1 (2):** Scimat/Photo Researchers. **T10.1 (3):** Stanley Flegler/Visuals Unlimited/Getty Images.

Capítulo 11. Abertura: Heide Schulz/Max Planck Institute. **11.1:** Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) do USDA. **11.2:** Yves V. Brun. **11.3:** Biological Photo Service. **11.4:** John D. Cunningham/Visuals Unlimited. **11.5:** Science VU/Visuals Unlimited. **11.6:** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **11.7:** Linda Stannard, University of Cape Town/Photo Researchers. **11.8:** Dennis Kunkel/Visuals Unlimited. **11.9 (a):** Institute Pasteur/CNRI/Phototake. **11.9 (b):** Pablo Zunino, Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. **11.10:** S. Rendulic, J. Berger, and S. Schuster, Max Planck Institute. **11.11:** Jonathan Eisenback/Phototake. **11.12:** B. Dowsett, CAMR/Photo Researchers. **11.13 (a):** Robert Calentine/Visuals Unlimited. **11.13 (b):** Ron Dengler/Visuals Unlimited. **11.14:** Paul Johnson/Biological Photo Service. **11.15:** Cabisco/Visuals Unlimited. **11.16:** Esther R. Angert. **11.17 (a):** De Hannay e Fitz James, *Canadian Journal of Microbiology* 1, 1955/National Researcher Council of Canada. **11.17 (b):** R. E. Strange and J. R. Hunter, in G. W. Gould and A. Hurst, eds., *The Bacterial Spore*. 1969, p.461, Fig. 4. (Orlando, FL: Academic Press, 1969). **11.18:** Eye of Science/Photo Researchers. **11.19:** SciMAT/Photo Researchers. **11.20 (a):** D. C. Krause and D. Taylor-Robinson, 1992. Mycroplasmas which infect humans. Fig. 1. in J. Maniloff et al., eds., *Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis*. Reproduzida com permissão da American Society for Microbiology. **11.20 (b):** Michael Gabridge/Visuals Unlimited. **11.21:** Kitasato University. **11.22:** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **11.23:** J. Wang, C. Jenkins, R. I. Webb, and J. A. Fuerst. Isolation of gemmata-like and isosphaera-like planctomycete bacteria from soil and freshwater. *Applied and Environmental Microbiology*. January 2002; 68(1):417–22. Fig. 1c. **11.24:** Kurt Reed, Marshfield Medical Research Foundation. **11.25:** J. A. Breznak and H. S. Pankratz/Biological Photo Service. **11.26:** Chris Bjornberg/Photo Researchers. **11.27:** Karl O. Stetter. **11.28:** Heide Schulz/Max Planck Institute. **AM (superior):** University of Bath. **AM (inferior):** Arco Images GmbH/Alamy.

Capítulo 12. Abertura: Yuuji Tsukii, Hosey University, Japão. **12.2:** Christine Case. **12.3:** David Scharf/Peter Arnold. **12.4:** Christine Case. **12.5 (a):** Dennis Kunkel/Phototake. **12.5 (b):** M. F. Brown/Visuals Unlimited. **12.5 (c, d):** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **12.5 (e), 12.6 (1):** G. Shih and R. Kessel/Visuals Unlimited. **12.6 (2):** M. F. Brown/Visuals Unlimited. **12.7:** J. Dijksterhuis, J. Nijsse, F. A. Hoekstra, E. A. Golovina. High viscosity and anisotropy characterize the cytoplasm of fungal dormant stress-resistant spores. *Eukaryot Cell*. 2007 Feb; 6(2):157–70. Fig. 7. **12.8 (1):** Biophoto Associates/Photo Researchers. **12.8 (2), 12.9, 12.10:** Christine Case. **12.11:** Jacqui Hurst/Corbis. **12.12:** Manfred Kage/Peter Arnold. **12.14 (a):** Fred Rhoades/Mycena Consulting. **12.14 (b):** Yuuji Tsukii, Hosei University, Japão. **12.15:** M. Abbey/Visuals Unlimited. **12.16 (b):** David M. Phillips/Visuals Unlimited. **12.16 (c):** Mary Anne Harrington, TML/MSH Shared Microbiology Service. **12.16 (d):** Melanie Moser, DPDx-CDC. **12.17:** Manfred Kage/Peter Arnold. **12.19:** E. R. Degginger/Photo Researchers. **12.20:** Michael Abbey/Visuals Unlimited. **12.21:** Carolina Biological Supply Company/ Phototake. **12.22:** Christine Case. **12.23:** D. O. Rosenberry. Malformed frogs in Minnesota: An update. USGS Water Fact Sheet. 2001; FS-043–01. Foto de David Hoppe. **12.24:** Steve J. Upton, Parasitology Research, Division of Biology, Kansas State University **12.26:** Stanley Flegler/Visuals Unlimited. **12.27 (a):** M. B. Hildreth, M. D. Johnson, K. R. Kazacos. Echinococcus multilocularis: A zoonosis of increasing concern in the United States. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 1991 May; 13(5): 727–41. **12.27 (b), 12.28:** Robert Calentine/Visuals Unlimited. **12.29:** C. E. Atkins. Heartworm Caval Syndrome. *Sem. Vet. Med. Surg*. 1987; 2:64–71. **12.30:** Hans Pfletschinger/Peter Arnold. **12.31:** Tom Murray/*BugGuide.Net*. **CF:** Melanie Moser, DPDx-CDC.

Capítulo 13. Abertura: Eye of Science/Photo Researchers. **13.2:** R. C. Valentine and H. G. Pereira, *Journal of Molecular Biology*/Biological Photo Service. **13.3:** K. G. Murti/Visuals Unlimited. **13.4:** Frederick A. Murphy, CDC. **13.5 (a):** Eye of Science/Photo Researchers. **13.5 (b):** Hans Gelderblom/Visuals Unlimited. **13.6:** Christine Case. **13.9:** G. Steven Martin/Visuals Unlimited. **13.14 (a):** D. O. White and F. J. Fenner, *Medical Virology*, 4th ed., Academic Press California (1994). **13.14 (b):** Chris Bjornberg/Photo Researchers. **13.16 (a):** C. Garon and J. Rose, CDC. **13.16 (b):** Linda Stannard, University of Cape Town/Photo Researchers. **13.18 (a):** Frederick A. Murphy, University of Texas Medical Branch, Galveston. **13.18 (b):** Linda Stannard, University of Cape Town/Photo Researchers. **13.20:** Visuals Unlimited/Corbis. **13.23:** T. O. Diener, USDA/Agricultura/Research Service Honey Breeding.

Capítulo 14. Abertura: Eye of Science/Photo Researchers. **14.1 (a):** Juergen Berger/Photo Researchers. **14.1 (b):** SPL/Photo Researchers. **14.1 (c):** David Scharf/Science Faction/Getty Images. **14.6 (a):** Stone/Getty Images. **14.6 (b):** Helen King/Corbis. **14.6 (c):** Stockbyte Platinum/Alamy. **14.6 (d):** Andrew Davidhazy, Photo Arts and Sciences, Rochester Institute of Technology. **14.7:** iStockphoto. **14.8:** Imagebroker/Alamy. **CF (a):** Christine Case. **CF (b):** iStockphoto.

Capítulo 15. Abertura: Gillette Corporation/Photo Researchers. **15.1 (b):** SPL/Photo Researchers. **15.1(c):** Gillette Corporation/Photo Researchers. **15.2:** C. Ginocchio, S. Olmstead, C. Wells and J. E. Galan. Contact with epithelial cells induces the formation of surface appendages on Salmonella typhimurium. *Cell*. 1994 Feb 25; 76(4):717–24. Copyright © 1994 by Elsevier Science. Reproduzida com permissão. **15.7 (a):** Frederick A. Murphy, School of Veterinary Medicine, University of California Davis. **15.7 (b):** Diana Hardie, University of Cape Town Medical School, África do Sul. **15.8:** John P. Bader/Biological Photo Service. **CF (a):** P. Marazzi/Photo Researchers. **CF (b):** Janice Carr, CDC. **CF (b inset)**: Jason D. Pimentel.

Capítulo 16. Abertura: Janice Carr, CDC. **16.2:** Ed Reschke/Peter Arnold. **16.4:** Anatomical Travelogue/Photo Researchers. **16.6:** Eye of Science/Photo Researchers. **16.10:** RD Schreiber, DC Morrison, ER Podack and HJ Muller-Eberhard. Bactericidal activity of the alternative complement pathway generated from 11 isolated plasma proteins. *Journal of Experimental Medicine*. 1979; 149:870–82, Copyright © 1979 by Rockefeller University Press. **AM:** Susumu Nishinaga/Photo Researchers. **T16.1 (1, 2, 3, 4, 6, 8, 10)**: Barbara Safiejko-Mroczka and Paul B. Bell Jr./Dept. of Zoology, University of Oklahoma. **T16.1 (5):** Giuseppe Bigi, *www.giuseppebigi.it*. **T16.1 (6):** Nivaldo Medeiros, *www.hematologyatlas.com*. **T16.1 (7, 9):** Copyright American Society of Hematology. Todos os direitos reservados.

Capítulo 17. Abertura: David Scharf/Peter Arnold. **17.3:** Zhifeng Shao, University of Virginia. **17.9:** T. Kato and R. L. Owen in *Mucosal Immunology* (2005), eds. J. Mestecky, M. E. Lamm, W. Strober, J. Bienenstock, J. R. McGhee, and L. Mayer. (Elsevier Academic Press, San Diego), pp. 131–51. **17.12:** Gopal Murti/Photo Researchers. **17.13:** David Scharf/Peter Arnold. **17.14:** Lennart Nilsson, Albert Bonniers Forlag AB. **17.15:** Anthony Butterworth. **AM (superior)**: Crystal Structure of IL-12 as published in the Protein Date Bank (PDB:IF45). Gerada por computador utilizando Pymol por Ramin Herati. **Am (inferior)**: AGStockUSA/Alamy.

Capítulo 18. Abertura: F. Marsik/Visuals Unlimited. **18.1:** Maine Biological. **18.4:** Christine Case. **18.6:** Biological Photo Service. **18.11:** F. Marsik/Visuals Unlimited. **18.13:** Laurent/Photo Researchers. **CF:** P. Marazzi/Photo Researchers.

Capítulo 19. Abertura: David Scharf/Peter Arnold. **19.1:** Lennart Nilsson, Albert Bonniers Forlag AB. **19.2:** David Scharf/Peter Arnold. **19.3:** James King-Holmes/ Photo Researchers. **19.7:** Jim W. Grace/Photo Researchers. **19.8:** Harvard Medical School. **19.11:** Lennart Nilsson, Albert Bonniers Forlag AB. **19.12:** J. Krahenbuhl, National Hansen's Disease Laboratory, Baton Rouge, LA. **CF:** P. Marazzi/Photo Researchers.

Capítulo 20. Abertura: Lennart Nilsson, Albert Bonniers Forlag AB. **20.1:** Michael T. Madigan. **20.3:** Lennart Nilsson, Albert Bonniers Forlag AB. **20.5:** Madeline Bastide, Laboratoire D'Immunologie et Parasitologie, Universite' de Montpellier, France. **20.17:** Christine Case. **20.18:** AB Biodisk. **20.19:** National Library of Medicine. **20.22:** Arco Images/Alamy. **20.23:** Eddy Vercauteren. **CF:** C. Poppe, L. C. Martin, C. L. Gyles, R. Reid-Smith, P. Boerlin, S. A. McEwen, J. F. Prescott, and K. R. Forward. Acquisition of resistance to extended-spectrum cephalosporins by Salmonella enterica subsp. enterica, serovar Newport and Escherichia coli in the turkey poultry intestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*. March 2005; 71(3): 1184–92. Fig. 1.

Capítulo 21. Abertura: Eye of Science/Photo Researchers. **21.3:** M. E. Olson, I. Ruseska, and J. W. Costerton. Colonization of n-bityl-2-cyanoacrylate tissue adhesive by Staphylococcus epidermis. *Journal of Biomedical Materials*. 22:485–95. ©1988 by Wiley. Reproduzida com permissão. **21.4:** Pulse Picture Library/CMP Images/ Phototake. **21.5:** Charles Stoer/Camera M. D. Studios. **21.6:** P. P. Cleary, University of Minnesota School of Medicine/Biological Photo Service. **21.7:** Cavallini/ Custom Medical Stock Photo. **21.8:** Ben Barankin, Dermatlas, *www.dermatlas.org*. **21.9:** Pulse Picture Library/ CMP Images/Phototake. **21.10:** Custom Medical Stock Photo. **21.11 (a):** Peter Usbeck/Alamy. **21.11 (b), 21.12:** P. Marazzi/Photo Researchers. **21.14:** Lowell Georgia/Photo Researchers. **21.15:** Franceschini/CNRI/Photo Researchers. **21.16 (a):** Medical-on-Line/Alamy. **21.16 (b):** Jane Shemilt/Photo Researchers. **21.17 (a):** Eye of Science/Photo Researchers. **21.17 (b):** Biophoto Associates/Photo Researchers. **21.18:** Eye of Science/Photo Researchers. **21.19 (a):** BSIP/PIR/Photo Researchers. **21.19 (b):** Eye of Science/Photo Researchers. **21.20:** Organização Mundial da Saúde – Prevenção de Cegueira e Surdez. **CF (a):** Stephen Tristram, School of Human Life Science, Tasmania. **CF (b, c):** Christine Case. **DIF 21.1:** CDC. **DIF 21.2:** Medical-on-Line/Alamy. **DIF 21.3:** P. Marazzi/Photo Researchers. **DIF 21.4:** SPL/Photo Researchers.

Capítulo 22. Abertura: D. T. John, T. B. Cole Jr., and F. M. Marciano-Cabral. Sucker-like structures on the pathogenic amoeba Naegleria fowleri. *Applied Environmental Microbiology*. 1984 Jan; 47(1):12–14. Fig. 7.14. **22.3:** D. S. Stephens, Emory University School of Medicine. **22.5:** L. Tilney, P. S. Connelly, and D. A. Portnoy. **22.6:** Bettmann/Corbis. **22.7:** C. E. Dolman. Botulism as a world health problem. *Botulism: Proceedings of a Symposium*, editado por K. H. Lewis and K. Cassel, American Public Health Service Publication No. 999-FP-1, 1964. **22.8:** FDA. **22.9 (a):** Biophoto Associates/Photo Researchers. **22.9 (b):** C. James Webb/Phototake. **22.10:** March of Dimes Birth Defects Foundation. **22.15:** Edward J. Bottone, Mount Sinai School of Medicine. **22.17:** D. T. John, T. B. Cole Jr., and F. M. Marciano-Cabral. Sucker-like structures on the pathogenic amoeba Naegleria fowleri. *Applied Environmental Microbiology*. 1984 Jan; 47(1):12–14. Fig. 7.14. **22.18 (a):** Vla/Photo Researchers. **22.18 (b):** Ralph Eagle Jr./Photo Researchers. **22.19:** Waste Reduction by Waste Reduction, *www.wr2.net*. **CF (a):** Frederick A Murphy/University of Texas Medical Branch, Galveston. **CF (b):** Bureau of Land Management. **DIF 22.1:** Brodsky, CDC. **DIF 22.2:** Jim Gathany, CDC. **DIF 22.3:** CDC.

Capítulo 23. Abertura: T. Geisbert, USAMRIID. **23.3:** Bart's Medical Library/ Phototake. **23.4:** Edward P. Ewing, CDC. **23.5:** National Museum of Health and Medicine/Armed Forces Institute of Pathology. **23.7:** Science Source/Photo Researchers. **23.8:** P. Marazzi/Photo Researchers. **23.9:** Gregory G. Dimijian/Photo Researchers. **23.10:** D. L. Kordick and E. B. Breitschwerdt. Intraerythrocytic presence of Bartonella henselae. *J Clin Microbiol.* 1995 June; 33(6): 1655–56. Fig. 3. **23.11:** CDC. **23.14 (b):** Bernard Furnival/Fran Heyl Associates. **23.14(c):** Scott Camazine/ Photo Researchers. **23.15:** James Gathany, CDC. **23.18:** Custom Medical Stock Photo. **23.19:** M. A. Ansary/Photo Researchers. **23.21:** T. Geisbert, USAMRIID. **23.22:** Oliver Meckes/Photo Researchers. **23.23 (1):** Foto original por A. Kimbal, de *A Pictorial Presentation of Parasites*, editado por Herman Zaiman. **23.23 (2):** Programa SFI. **23.25 (a):** Lennart Nilsson, Albert Bonniers Forlag AB. **23.25 (b):** DPDx-CDC. **23.26:** Walter Reed Army Institute of Research. **23.27:** NIH/Science Source/Photo Researchers. **23.28:** Foto original por M. Voge, de *A Pictorial Presentation of Parasites*, editado por Herman Zaiman. **AM (superior)** Georgia Tech Photo por Gary Meek. **AM (inferior):** Michael Abbey/Photo Researchers. **CF:** Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory, CDC. **DIF 23.1:** Reproduzida com permissão da ASM MicrobeLibrary, *www.microbelibrary.org.* **DIF 23.2:** Sellers, Emory University, CDC. **DIF 23.3:** A.J. Sulzer, CDC. **DIF 23.4:** CDC. **DIF 23.5:** Visuals Unlimited/Corbis.

Capítulo 24. Abertura: J. A. Edwards, N. A. Groathouse, and S. Boitano, Bordetella bronchiseptica adherence to cilia is mediated by multiple adhesin factors and blocked by surfactant protein A. *Infectious Immunology*. 2005 Jun; 73(6):3618–26. Cover. © 2005, American Society for Microbiology. **24.3:** P. Marazzi/Photo Researchers. **24.4:** P. B. Smith, CDC. **24.5:** Science VU/Visuals Unlimited. **24.6:** Tony Wright, Institute of Laryngology and Otology/SPL/Photo Researchers. **24.7:** J. A. Edwards, N. A. Groathouse, and S. Boitano, Bordetella bronchiseptica adherence to cilia is mediated by multiple adhesin factors and blocked by surfactant protein A. *Infectious Immunology*. 2005 Jun; 73(6): 3618-26. Capa. © 2005, American Society for Microbiology. **24.8:** Biophoto Associates/Photo Researchers. **24.10:** Mediscan/Visuals Unlimited. **24.12:** Raymond B. Otero/Visuals Unlimited. **24.13:** Michael Gabridge/ Visuals Unlimited. **24.14 (a):** Moredun Animal Health Ltd./SPL/Photo Researchers. **24.14 (b):** National Museum of Health and Medicine/ Armed Forces Institute of Pathology. **24.16 (a):** Libero Ajello, CDC. **24.16 (b):** Arthur M. Siegelman/Visuals Unlimited. **24.20 (superior):** A. B. Dowsett/Photo Researchers. **24.20 (inferior):** L. L. Pifer, W. T. Hughes, and M. J. Murphy Jr. Propagation of Pneumocystis carinii in vitrio. *Pediatric Research*. 1977 Apr; 11(4):305–16. **CF:** CDC. **DIF 24.1:** Edgar O. Ledbetter, *Visual Red Book on CD-ROM* 2001, ©AAP. Usada com permissão da American Academy of Pediatrics. **DIF 24.2:** Christine Case. **DIF 24.3:** Lenore Haley, CDC.

Capítulo 25. Abertura: Eric Grave/Photo Researchers. **25.3:** Hutton D. Slade. *Microbiology Review*. 1980; 44:331–84, Fig. 5. ASM News. **25.7:** B. B. Finlay and P. Cossart, *Science.* 1997; 276:718-25. Reproduzida com permissão da American Assoc. for the Advancement of Science. **25.11:** Dennis Kunkel/Visuals Unlimited. **25.12:** I. Rosenshine et al. A pathogenic bacterium triggers epithelial signals to form a functional bacterial receptor that mediates actin pseudopod formation. *The EMB0 Journal*. 1996 June 3; 15(11)2613-24. Capa. **25.13:** SPL/Photo Researchers. **25.14:** P. Marazzi/Photo Researchers. **25.15:** Linda Stannard, UCT/Photo Researchers. **25.16:** Gopal Murti/Phototake. **25.17:** Robert Owen et al. Ultrastructural observations of giardiasis in a murin model. *Gastroenterology.* 76:757–69. ©1979 by the American Gastroenterological Assoc. **25.18:** EM Unit, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, UK. **25.19:** Armed Force Institute of Pathology. **25.21:** Foto original por A. Kimbal, de *A Pictorial Presentation of Parasites*, editado por Herman Zaiman. **25.22:** Armed Forces Institute of Pathology. **25.23:** Robert Calentine/Visuals Unlimited. **25.24:** Sinclair Stammers/Photo Researchers. **25.25 (a):** Eric Grave/ Photo Researchers. **25.25 (b):** Daniel Snyder/Visuals Unlimited/Getty Images. **AM (superior):** Addison N. Scurlock Collection, Archives Center, National Museum of American History, Smithsonian Institution. **AM (inferior):** Eureka Slide/SuperStock. **CF:** Christine Case. **DIF 25.1:** Laura Ahonen. **DIF 25.2:** Mauro Rodrigues/ Shutterstock. **DIF 25.3 (esquerda):** Southern Illinois University/Photo Researchers. **DIF 25.3 (direita):** Custom Medical Stock Photo. **DIF 25.4:** E. L. Palmer, CDC. **DIF 25.5:** Melanie Moser, DPDx-CDC.

Capítulo 26. Abertura, 26.4: Dennis Kunkel/Visuals Unlimited. **26.6:** CDC. **26.7:** Gary E. Kaiser, *http://student.ccbcmd.edu/~gkaiser/*. **26.8:** David Soper. **26.9:** Michael Abbey/Photo Researchers. **26.11 (a):** Biophoto Associates/Photo Researchers. **26.11 (b):** Collection CNRI/Phototake. **26.11 (c):** CDC. **26.12:** Seattle STD/HIV Prevention Training Center, University of Washington. **26.14:** Michael Remington, University of Washington Viral Disease Clinic. **26.15:** Bart's Medical Library/Phototake. **26.16:** D. Petrin et al. Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. *Clinical Microbiology Review*. 1998 Apr; 11(2):300–17, Fig. 1. **DIF 26.1:** Christine Case. **DIF 26.2:** M. Rein, CDC. **DIF 26.3:** Renelle Woodall, CDC.

Capítulo 27. Abertura: George J. Wilder/Visuals Unlimited. **27.1 (a):** M. F. Brown/ Biological Photo Service. **27.1 (b):** R. L. Peterson/Biological Photo Service. **27.2 (a):** Mycorrhizal Application, *www.mycorrhizae.com*. **27.2 (b):** Michel Viard/Peter Arnold. **27.5:** Holt Studios Int'l. Ltd./Alamy. **27.6:** George J. Wilder/Visuals Unlimited. **27.9:** Visuals Unlimited. **27.10:** Nancy Pierce/Photo Researchers. **27.11:** Kenneth Lucas. **27.13:** Pete Atkinson/ANT Photo Library. **27.14:** IDEXX Laboratories. **27.16:** Ron Hendricksen, Water Treatment Plants, City of Fargo, ND. **27.17:** Blue Flag, *www.blueflag.org.* **27.19:** Virgil Paulson/Biological Photo Service. **27.20:** Environmental Leverage, *www.EnvironmentalLeverage.com.* **27.21 (a):** Douglas Munnecke/Biological Photo Service. **27.22:** Christine Case. **AM (a, b):** Christine Case. **AM (inferior):** Pedro Armestre/AFP/Getty Images. **CA:** Randall Von Wedel, CytoCulture Int'l.

Capítulo 28. Abertura: David Scharf/Peter Arnold. **28.2:** Packaging Technologies & Inspection, Tuckahoe, NY. **28.4:** International Paper. **28.6:** Hank Morgan/Rainbow. **28.8 (a, b):** David M. Frazier/Photo Researchers. **28.8(c):** Junebug Clark/Photo Researchers. **28.10:** Da coleção da North Carolina Biotechnology Center. **28.12:** Manfred Kage/Peter Arnold. **28.15:** Capstone Microturbines, *www.microturbine.com.* **28.16 (a):** Solix Biofuels. **28.16 (b):** Keith Cooksey/Montana State University. **AM (inferior):** Reproduzida com permissão de Kelco Biopolymers, San Diego. **AM (meio):** *Seelevel.com.* **AM (esquerda):** StockFood/Getty Images.

ÍNDICE

Nota: Referências de páginas seguidas por um *t* indicam material de tabelas, um *f* indicam uma figura ou uma ilustração, um *b* indicam material presente em quadros e um número de página em negrito indicam uma definição.

Índice

Índice

Índice

Índice

Índice

Índice

Índice

GUIA TAXONÔMICO DE DOENÇAS

BACTÉRIAS E AS DOENÇAS QUE ELAS CAUSAM

Alfaproteobactérias		
Anaplasmose	*Anaplasma phagocytophilum*	p. 654
Brucelose	*Brucella* spp.	p. 643-645
Doença da arranhadura do gato	*Bartonella henselae*	p. 647
Erliquiose	*Ehrlichia* spp.	p. 654
Tifo endêmico murino	*Rickettsia typhi*	p. 655
Tifo epidêmico	*R. prowazekii*	p. 654
Febre maculosa das Montanhas Rochosas	*R. rickettsii*	p. 655
Betaproteobactérias		
Gonorreia	*Neisseria gonorrhoeae*	p. 747-750
Melioidose	*Burkholderia pseudomallei*	p. 690-691
Meningite	*N. meningitidis*	p. 612-614
Infecções nosocomiais	*Burkholderia* spp.	p. 440
Oftalmia neonatal	*N. gonorrhoeae*	p. 603, 748
Doença inflamatória pélvica	*N. gonorrhoeae*	p. 751-752
Coqueluche	*Bordetella pertussis*	p. 680-682
Febre por mordida de rato	*Spirillum minor*	p. 647
Gamaproteobactérias		
Mordidas de animais	*Pasteurella multocida*	p. 646-648
Disenteria bacilar	*Shigella* spp.	p. 712
Cancroide	*H. ducreyi*	p. 756
Cólera	*Vibrio cholerae*	p. 716-717
Conjuntivite	*H. influenzae*	p. 603
Cistite	*Escherichia coli*	p. 746
Dermatite	*Pseudomonas aeruginosa*	p. 591
Epiglotite	*Haemophilus influenzae*	p. 676-677
Gastrenterite	*E. coli*	p. 717-718
Gastrenterite	*V. parahaemolyticus*	p. 717
Gastrenterite	*V. vulnificus*	p.717
Gastrenterite	*Y. enterocolitica*	p. 720
Legionelose	*Legionella pneumophila*	p. 688-689, 691
Meningite	*H. influenzae*	p. 613
Otite externa	*P. aeruginosa*	p. 593
Otite média	*H. influenzae*	p. 679
Otite média	*Moraxella catarrhalis*	p. 679
Peste	*Yersinia pestis*	p. 648-650
Pneumonia	*H. influenzae*	p. 688
Pielonefrite	*E. coli*	p. 746
Febre Q	*Coxiella burnetti*	p. 689-690
Salmonelose	*Salmonella enterica*	p. 712-715
Septicemia	*P. fluorescens*	p. 164
Tularemia	*Francisella tularensis*	p. 642-643
Febre tifoide	*S. typhi*	p. 714-716
Epsilonproteobactérias		
Gastrenterite	*Campylobacter jejuni*	p. 718
Gastrite	*Helicobacter pylori*	p. 718-720
Úlcera péptica	*H. pylori*	p. 718-720
Clostrídios		
Botulismo	*C. botulinum*	p. 616-619
Gangrena	*C. perfringens*	p. 646
Gastrenterite	*C. difficile*	p. 720
Gastrenterite	*C. perfringens*	p. 720
Tétano	*Clostridium tetani*	p. 615-616
Molicutes		
Pneumonia	*Mycoplasma pneumoniae*	p. 688
Uretrite	*Mycoplasma, Ureaplasma*	p. 751
Bacilos		
Antraz	*Bacillus anthracis*	p. 645
Endocardite bacteriana	*Staphylococcus aureus*	p. 641
Cistite	*S. saprophyticus*	p. 746
Cárie dental	*S. mutans*	p. 707-709
Endocardite	Estreptococos α-Hemolíticos	p. 641
Erisipela	*Streptococcus pyogenes*	p. 591
Foliculite	*S. aureus*	p. 588
Intoxicação alimentar	*S. aureus*	p. 711-712
Gastrenterite	*B. cereus*	p. 720
Impetigo	*S. aureus*	p. 588
Listeriose	*Listeria monocytogenes*	p. 614-615
Meningite	*S. pneumoniae*	p. 614

MRSA	*S. aureus*	p. 422, 586-587
Fasciite necrosante	*S. pyogenes*	p. 591
Otite média	*S. pneumoniae*	p. 679
Pneumonia	*S. pneumoniae*	p. 685-688
Sepse puerperal	*S. pyogenes*	p. 640-641
Febre reumática	*S. pyogenes*	p. 641
Síndrome da pele escaldada	*S. aureus*	p. 588
Febre escarlate	*S. pyogenes*	p. 677
Sepse	*Enterococcus* spp.	p. 640
Sepse	*S. agalactiae*	p. 640
Faringite estreptocócica	*S. pyogenes*	p. 677
Síndrome do choque tóxico	*S. aureus*	p. 588
Síndrome do choque tóxico	*S. pyogenes*	p. 591
Actinobactérias		
Acne	*Propionibacterium acnes*	p. 594
Úlcera de Buruli	*Mycobacterium ulcerans*	p. 594
Difteria	*Corynebacterium diphtheriae*	p. 677-678
Lepra	*M. leprae*	p. 619-620
Micetoma	*Nocardia asteroides*	p. 321
Micobactéria de crescimento rápido	*Mycobacterium* spp.	p. 201
Tuberculose	*M. tuberculosis*	p. 682-685
Tuberculose	*M. bovis*	p. 144
Vaginose	*Gardnerella vaginalis*	p. 756
Clamídias		
Conjuntivite por inclusão	*Chlamydia trachomatis*	p. 604
Linfogranuloma venéreo	*C. trachomatis*	p. 755
Doença inflamatória pélvica	*C. trachomatis*	p. 751-752
Pneumonia	*Chlamydophila pneumoniae*	p. 689
Psitacose	*C. psittaci*	p. 689
Tracoma	*C. trachomatis*	p. 604-605
Uretrite	*C. trachomatis*	p. 750-751
Espiroquetas		
Leptospirose	*Leptospira interrogans*	p. 746-747
Doença de Lyme	*Borrelia burgdorferi*	p. 651-654
Febre recorrente	*B.* spp.	p. 650-651
Sífilis	*Treponema pallidum*	p. 752-755
Bacteroidetes		
Gengivite necrosante aguda	*Prevotella intermedia*	p. 709
Doença periodontal	*Porphyromonas* spp.	p. 709
Fusobactérias		
Febre por mordida de rato	*Streptobacillus moniliformis*	p. 647

FUNGOS E AS DOENÇAS QUE ELES CAUSAM

Ascomicetos		
Aspergilose	*Aspergillus fumigatus*	p. 697-698
Blastomicose	*Blastomyces dermatitidis*	p. 697
Histoplasmose	*Histoplasma capsulatum*	p. 695-696
Micose, pé-de-atleta	*Microsporum, Trichophyton*	p. 600-601
Anamorfos		
Candidíase	*Candida albicans*	p. 601-602, 758-759
Coccidioidomicose	*Coccidioides immitis*	p. 696-697
Pneumonia	*Pneumocystis jirovecii*	p. 697
Esporotricose	*Sporothrix schenckii*	p. 601
Basidiomicetos		
Caspa	*Malassezia furfur*	p. 586
Meningite	*Cryptococcus neoformans*	p. 626-627
Micotoxinas		p. 443, 729-730

PROTOZOÁRIOS E AS DOENÇAS QUE ELES CAUSAM

Archaezoa		
Giardíase	*Giardia lamblia*	p. 730
Tricomoníase	*Trichomonas vaginalis*	p. 760
Apicomplexos		
Babesiose	*Babesia microti*	p. 666
Criptosporidiose	*Cryptosporidium* spp.	p. 355, 731
Infecção por *Cyclospora*	*Cyclospora cayetanensis*	p. 731
Malária	*Plasmodium* spp.	p. 663-665
Toxoplasmose	*Toxoplasma gondii*	p. 661-663
Amoebozoa		
Disenteria amebiana	*Entamoeba histolytica*	p. 731-732
Encefalite	*Acanthamoeba* spp.	p. 605
Ceratite	*Acanthamoeba, Balamuthria mandrillaris*	p. 629

Euglenzoa

Doença	Agente	Página
Tripanossomíase africana	*Trypanosoma brucei*	p. 627, 629
Doença de Chagas	*T. cruzi*	p. 661
Leishmaniose	*Leishmania* spp.	p. 665-666
Meningoencefalite	*Naegleria fowleri*	p. 629

HELMINTOS E AS DOENÇAS QUE ELES CAUSAM

Platelmintos

Doença	Agente	Página
Doença hidática	*Echinococcus granulosus*	p. 733-734
Esquistossomose	*Schistosoma* spp.	p. 666-667
Dermatite do nadador	Esquistossomas	p. 667
Infecções por tênia	*Taenia* spp.	p. 732-733

Nematódeos

Doença	Agente	Página
Ascaridíase	*Ascaris lumbricoides*	p. 736
Doença por ancilóstomos	*Necator americanus, Ancyclostoma*	p. 735-736
Doença por oxiúro	*Enterobius vermicularis*	p. 734-735
Triquinelose	*Trichinella spiralis*	p. 736-737

ALGAS E AS DOENÇAS QUE ELAS CAUSAM

Grupo	Agente	Página
Algas Vermelhas, Diatomáceas e Dinoflagelados	*Alexandrium, Pfiesteria*	p. 343-344
Oomicetos	*Phytophthora*	p. 344

ARTRÓPODES E AS DOENÇAS QUE ELES CAUSAM

Doença	Agente	Página
Pediculose	*Pediculus humanus*	p. 602-603
Escabiose	*Sarcoptes scabiei*	p. 602

VÍRUS E AS DOENÇAS QUE ELES CAUSAM

Vírus DNA

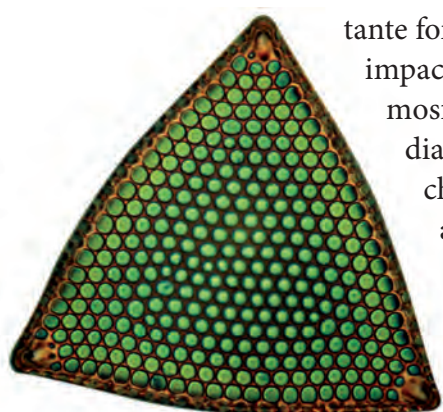
Doença	Agente	Página
Linfoma de Burkitt	Herpesvírus	p. 655-656
Varicela	Herpesvírus	p. 596-597
Herpes labial	Herpesvírus	p. 597-598
Doença da inclusão citomegálica	Herpesvírus	p. 658
Eritema infeccioso	Parvovírus	p. 600
Herpes genital	Herpesvírus	p. 757-758
Verrugas genitais	Papovavírus	p. 758
Hepatite B	Hepadnavírus	p. 723-726
Mononucleose infecciosa	Herpesvírus	p. 656-657
Ceratite	Herpesvírus	p. 605
Varíola símia	Poxvírus	p. 596
Roséola	Herpesvírus	p. 600
Herpes zoster	Herpesvírus	p. 596
Varíola	Poxvírus	p. 595-596
Verrugas	Papovavírus	p. 595

Vírus RNA

Doença	Agente	Página
Aids	Retrovírus	p. 539-548
Febre de Chikungunya	Togavírus	p. 658
Resfriado comum	Picornavírus	p. 679
Dengue	Flavivírus	p. 659
Encefalite	Bunyavírus	p. 624-626
Encefalite	Flavivírus	p. 223, 624-626
Encefalite	Rabdovírus	p. 624
Encefalite	Togavírus	p. 624-626
Gastrenterite	Calicivírus	p. 266, 728
Gastrenterite	Reovírus	p. 728
Síndrome pulmonar por *Hantavirus*	Bunyavírus	p. 660
Febre hemorrágica	Filovírus, Arenavírus	p. 659
Hepatite A	Picornavírus	p. 721-723
Hepatite C	Flavivírus	p. 726
Hepatite D	Deltavírus	p. 726-727
Hepatite E	Calicivírus	p. 727-728
Gripe (Influenza)	Ortomixovírus	p. 370, 692-694
Sarampo	Paramixovírus	p. 504, 598-599
Caxumba	Paramixovírus	p. 721
Poliomielite	Picornavírus	p. 620-622
Raiva	Rabdovírus	p. 622-624
Infecção por RSV	Paramixovírus	p. 692
Rubéola	Togavírus	p. 599-600
Febre amarela	Flavivírus	p. 659

PRIONS E AS DOENÇAS QUE ELES CAUSAM

Doença	Agente	Página
Encefalopatias espongiformes transmissíveis		p. 392-393, 630-631

Na capa: *Triceratium latus*, diatomácia

Esta micrografia eletrônica apresenta o intrincado padrão de buracos na parede celular de uma diatomácea – um tipo de alga. Diatomáceas são uma importante fonte de alimento para os animais aquáticos, mas também têm um impacto significativo na vida humana. Um quarto do oxigênio na atmosfera e grande parte do petróleo que usamos são produzidos pelas diatomáceas durante a fotossíntese. Diatomáceas fossilizadas, o que chamamos de "terra de diatomáceas", são usadas em filtros de água, areia para gatos e como tinta refletiva para estradas. Atualmente, a indústria tem analisado a possibilidade de utilizar as paredes celulares de diatomáceas na fabricação de cosméticos iridescentes, hologramas de cartão de crédito e em nanorobôs. Há, também, a possibilidade de utilizar conchas de diatomáceas como meio de entrega de substâncias no corpo humano.

Micróbios estão por toda parte e têm um profundo impacto em nosso mundo. Às vezes, causam doenças, mas também têm efeitos tremendamente benéficos. Ajudam a produzir comida, energia e produtos de consumo que melhoram a nossa qualidade de vida – e até mesmo tornam a vida possível.

www.grupoa.com.br/tortoramicrobiologia10ed

Visite o *hotsite* deste livro e tenha acesso a materiais (em inglês e português) que o auxiliarão a testar e fixar os conhecimentos adquiridos.

Materiais exclusivos para professores!

Acesse, no *link* deste livro em www.grupoa.com.br, materiais (em inglês e português) que o auxiliarão a preparar suas aulas.